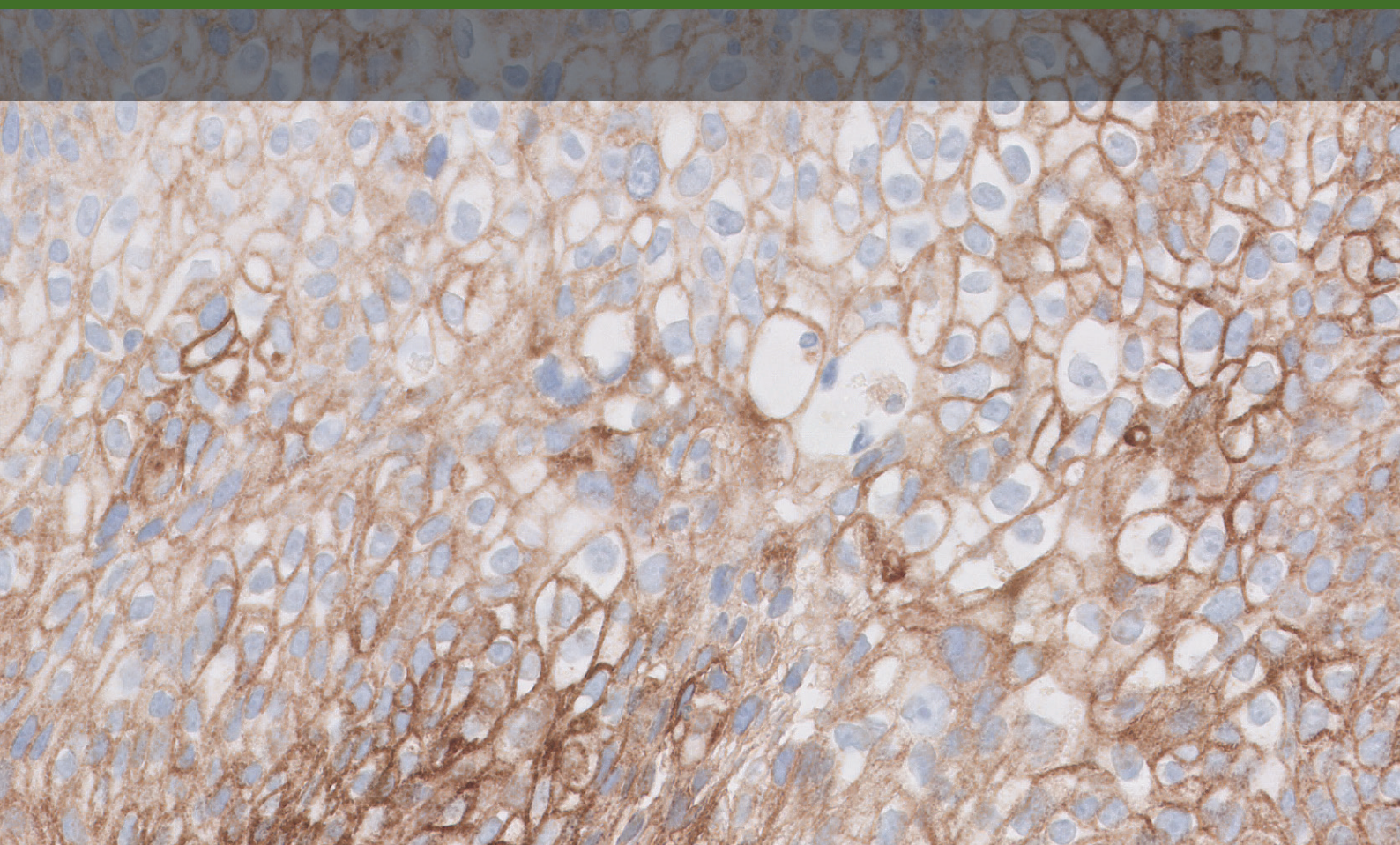


PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」 の頭頸部癌染色結果判定マニュアル

体外診断用



目次

使用目的	04
はじめに	06
PD-L1 の概要	08
PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の概要	10
キットの構成 (SK00621-5J)	11
技術的留意点	12
検体の準備	12
施設内コントロール組織	12
追加 (オプション) の施設内コントロール: 扁桃組織	13
組織の処理	13
PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」染色手順	14
テクニカルチェックリスト	17
スライドの評価	18
一般的留意点	18
組織の評価基準	18
コントロールの評価	19
スライド評価フローチャート	23
Combined Positive Score (CPS)	24
Combined Positive Score (CPS) の定義	24
CPS の分子の組み入れ/除外基準	24
Combined Positive Score (CPS) の決定	25
推奨メソッド	27
CPS の判定	30
治療対象となる頭頸部癌患者の選定	31
PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」検査計画	31
結果の報告	32
Combined Positive Score (CPS) の要約および症例	33
PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」での染色結果判定における注意事項	33
頭頸部扁平上皮癌症例のさまざまな染色像とその解釈	34
アーチファクト	48
CPS の症例	52
CPS < 1 の症例	52
CPS 1 カットオフ付近の症例	53
(0 < CPS ≤ 10)	
CPS 20 カットオフ付近の症例	57
(10 < CPS ≤ 30)	
CPS ≥ 20 の症例	60
トラブルシューティングガイド	62
臨床性能評価	63
参考文献	66

使用目的

体外診断用

がん組織、細胞中の PD-L1 発現率の測定 (非小細胞肺癌患者及び頭頸部癌患者におけるペムブロリズマブ (遺伝子組換え) の適切な投与を行うための補助に用いる。)

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」は、抗 PD-L1 マウスモノクローナル抗体 (Clone 22C3) を用いた定性的な免疫組織化学染色法を原理としたアッセイキットです。ダコ Autostainer Link 48 (IHC 自動染色装置) 上で EnVision FLEX 検出試薬を使用し、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 非小細胞肺癌 (NSCLC)、頭頸部癌組織中の PD-L1 発現率を測定するためのものです。

非小細胞肺癌における PD-L1 発現率は、強度 1+ 以上で部分的または完全な細胞膜の染色を示す陽性腫瘍細胞の割合である Tumor Proportion Score (TPS) を用いて決定します。

頭頸部癌における PD-L1 発現率は、PD-L1 抗体で染色された細胞 (腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ) の数を生存腫瘍細胞の総数で割り、100 を掛けた Combined Positive Score (CPS) を用いて決定します。

はじめに

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」は、キイトルーダ® (ペムブロリズマブ) の投与により生存率が改善される可能性のある頭頸部癌患者を選定するために承認を得た唯一の PD-L1 アッセイです。この染色結果判定マニュアルは、病理医や検査担当者が、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 頭頸部癌検体中の PD-L1 発現率の評価において、正確で再現性のある結果を得られるようサポートするためのものです。PD-L1 発現 の評価は、キイトルーダ治療に適した頭頸部癌患者選定の補助に役立ちます。

このマニュアルでは、高品質な染色と診断評価が得られるよう、PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の判定法と技術情報を詳述します。PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」を用いた頭頸部癌の染色のスコアリングに必要な事項を十分に知っていただくために、さまざまな PD-L1 発現率の症例を参考として紹介しています。施設で再現性のある信頼性の高い結果を得るために、このような症例や PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」によって染色された頭頸部癌検体の判定のための詳細な推奨事項をお読みください。

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」は、定性的な免疫組織化学染色法を原理とするアッセイキットです。頭頸部癌における PD-L1 発現率は、PD-L1 抗体で染色された細胞 (腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ) の数を総生存腫瘍細胞数で割り、100 を掛けた Combined Positive Score (CPS) を用いて決定します。

頭頸部癌組織検体を用いて PD-L1 発現をスコアリングし、Combined Positive Score (CPS) に基づいて 3 つのグループに分けます。

- CPS < 1
- CPS \geq 1
- CPS \geq 20

染色と判定方法についての詳細は、PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」(コード: SK00621-5J) に同梱されている最新版の添付文書を参照するか、www.agilent.com をご確認ください。

結果の判定

染色性を臨床的に判定するには、コントロールを適切に評価する必要があります。評価は、患者の病歴や他の診断検査の枠内で、病理医が行う必要があります。本製品は、体外診断用医薬品です。

結果の報告

治療担当医師に報告すべき情報については、本マニュアル 32 ページの「結果の報告」の章を参照してください。

顕微鏡写真

掲載されている顕微鏡写真は、子宮頸部の扁平上皮細胞癌である図 35 を除き、HNSCC のものです。

注意事項: 顕微鏡写真の倍率は、画像サイズの調整のため、それぞれの注釈で表示されている値とは異なって見える可能性があります。

組織サンプルは、米国国立がん研究所が資金提供する Cooperative Human Tissue Network によって提供されました。他の治験責任医師も同一被験者から検体を得た可能性があります。

このプロジェクトで用いられるデータおよび生物検体は、Trans-Hit Biomarkers Inc.を通して、米国 Biolab (メリーランド州ロックヴィル) から適切な倫理上の承認を得て提供されています。

組織サンプルは Asterand Bioscience によって供給されました。

PD-L1 の概要

PD-1/PD-L1 経路は、正常細胞における免疫応答を制御する

PD-L1 (Programmed death-ligand 1) は、免疫系の応答時に PD-1 (Programmed death-1 receptor) に結合する膜貫通型タンパク質です。PD-1 受容体は通常、細胞傷害性T細胞などの免疫細胞上に発現します。PD-L1 は通常正常な細胞上に発現します。正常な細胞は、PD-1 と PD-L1 の相互作用を利用し、T 細胞を不活性化することで免疫認識に対する保護機構として利用しています (図 1)。細胞傷害性 T 細胞が不活性化すると、免疫応答のダウンレギュレートが起こり、その結果、不活性化した T 細胞が細胞分裂を停止して枯渇し、最終的にはプログラム細胞死、すなわちアポトーシスに至ります。

腫瘍は PD-1/PD-L1 経路を利用して免疫応答から免れる

多くの腫瘍細胞は、人体の自然な免疫応答を免れるためのメカニズムとして、PD-L1 の発現をアップレギュレートすることができます。活性化された T 細胞は、腫瘍細胞上の PD-L1 を認識します。これは正常細胞の場合と類似しており、PD-L1 のシグナル伝達により、T 細胞は不活性化されます (図 2)。腫瘍細胞は免疫サイクルを免れ、排除のための検知を回避し続け増殖することができます。

抗 PD-1 治療薬により、腫瘍に対する免疫応答が可能

キイトルーダ (ペムブロリズマブ) は腫瘍細胞と活性化した T 細胞の間の PD-1/PD-L1 相互作用をブロックする抗 PD-1 がん免疫治療薬です (図 3)。腫瘍細胞と活性化した T 細胞との相互作用をブロックすることで、腫瘍細胞による免疫抑制を防ぐことができます。

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」は頭頸部癌組織検体中の PD-L1 を検出する

頭頸部癌における PD-L1 のアップレギュレートは、抗 PD-1 治療薬への反応性に対するバイオマーカーとなります。PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」は、PD-L1 発現と臨床効果の関係を評価するための、キイトルーダ® (ペムブロリズマブ) の臨床試験 (KEYNOTE-048) で用いられた唯一の PD-L1 アッセイです。キイトルーダはヒト化抗ヒト PD-1 モノクローナル抗体です。

PD-1/PD-L1 経路

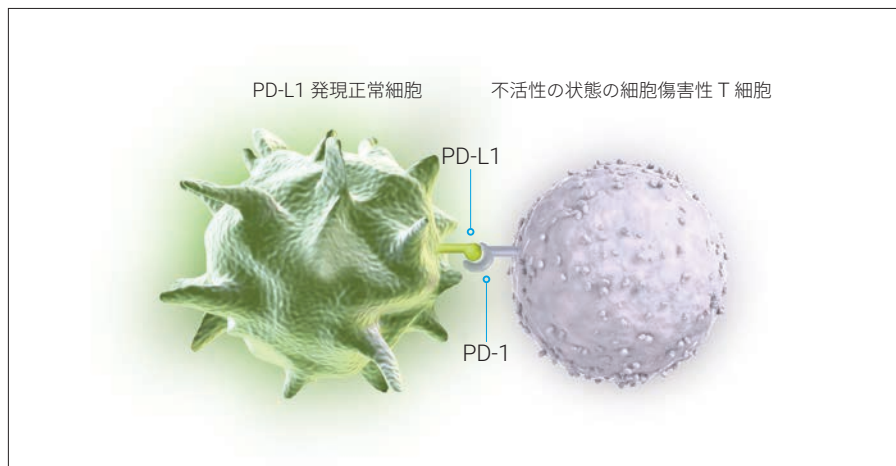


図 1: T 細胞が不活性化すると、正常組織へのダメージが抑制される。

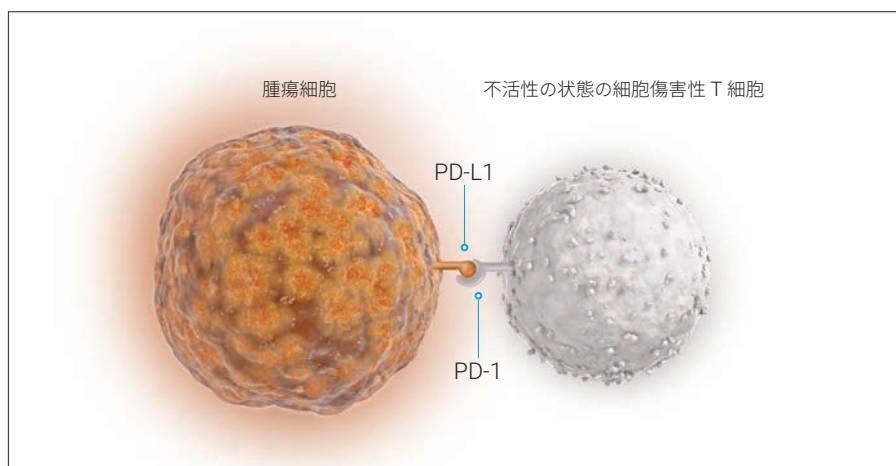


図 2: T 細胞が不活性化すると、腫瘍の細胞死が抑制される。

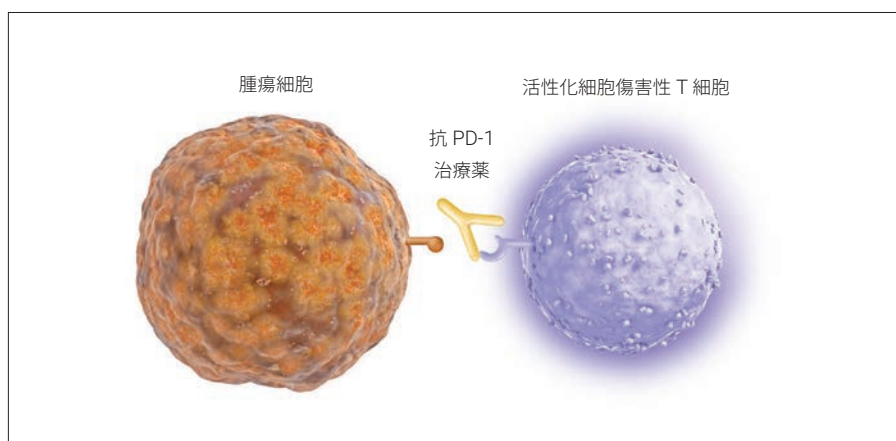


図 3: PD-1/PD-L1 の相互作用が阻害されると、活性化した T 細胞の働きが有効になり、腫瘍細胞を積極的に排除できるようになる。

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の概要

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」とは何ですか？

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」は、キイトルーダ®（ペムブロリズマブ）の投与により生存率の改善が認められる可能性のある頭頸部癌患者を特定できる唯一の承認済 PD-L1 アッセイです。PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」は、定性的な免疫組織化学的 (IHC) アッセイであり、FFPE 頭頸部癌組織中の PD-L1 発現率をダコ Autostainer Link 48 (IHC 自動染色装置) 上で EnVision FLEX 検出試薬を使用して測定するためのものです。

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の構成

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」には、リンカー試薬を用いた IHC 染色手順を実施するための最適化された試薬と、DAB エンハンサー試薬が含まれています (図 4)。脱パラフィン、親水化、抗原賦活は PT Link での 3-in-1 処理を用いて実施します。検体はブロッキング試薬で処理後、PD-L1 に特異的な一次抗体 (抗 PD-L1 マウスモノクローナル抗体 (Clone 22C3))、または一次抗体陰性コントロールとともに反応させます。その後リンカー試薬を反応させ、次にポリマー試薬 (デキストランポリマーに二次抗体とパーオキシダーゼが結合) を反応させ、さらに調製した基質溶液を反応させます。

基質溶液中の DAB がポリマー試薬中のパーオキシダーゼにより酸化されて抗原部位に可視産物が生成され、抗原部位が暗褐色に染色されます。最後に、対比染色を行い、脱水、透徹処理後、非水溶性の永久標本用封入剤で封入し、カバーガラスをのせます。結果の判定には光学顕微鏡を用います。

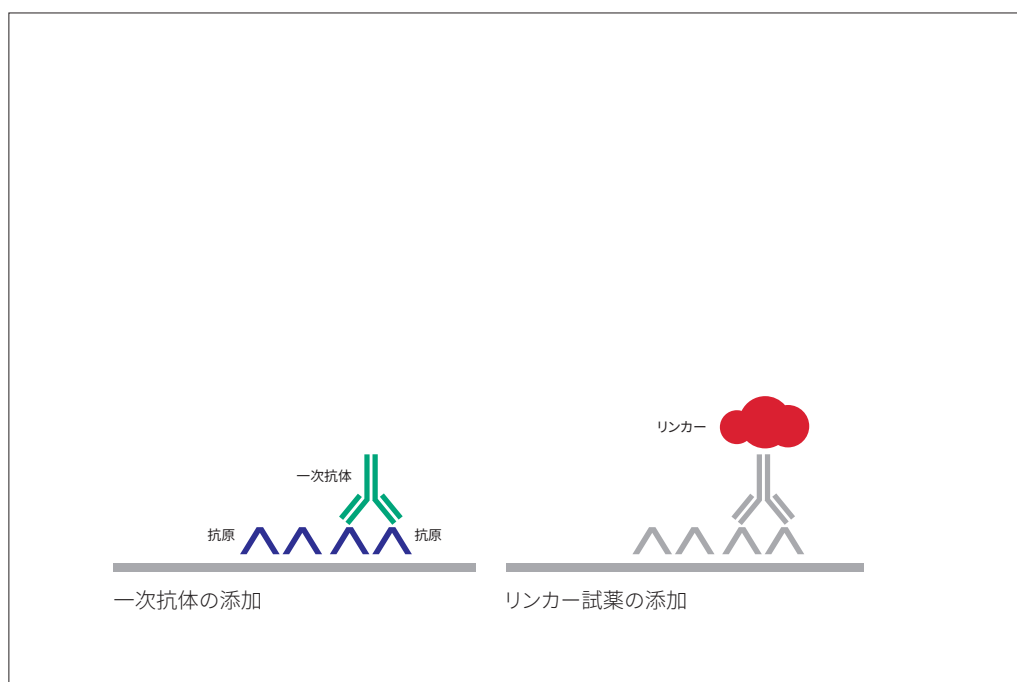


図 4: PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」染色手順

キットの構成 (SK00621-5J)



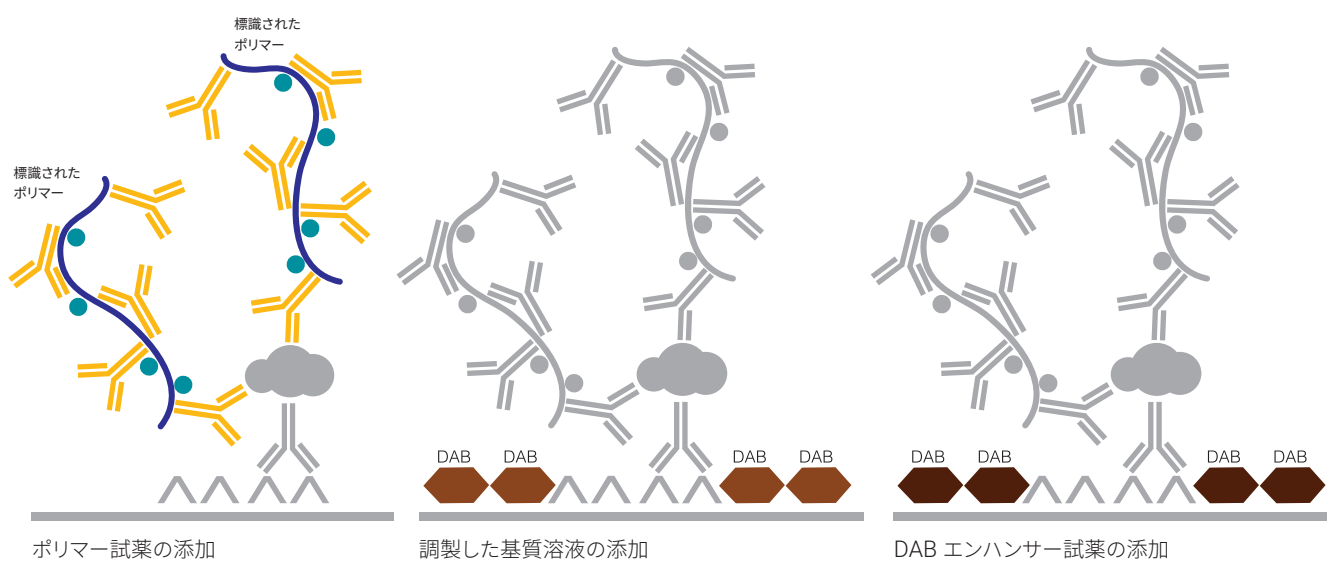
図 5: PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の構成

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」(コード: SK00621-5J) には、50 テスト分に相当する試薬およびコントロールスライド 15 枚が含まれています (図 5)。

- 1 濃縮抗原賦活液 (50×)
- 2 ブロッキング試薬
- 3 一次抗体: 抗 PD-L1 マウスモノクローナル抗体 (Clone 22C3)
- 4 一次抗体陰性コントロール
- 5 リンカー試薬
- 6 ポリマー試薬
- 7 基質緩衝液
- 8 発色基質
- 9 DAB エンハンサー試薬
- 10 コントロールスライド*

* NIH の Dr. AF Gazdar および Dr. JD Minna は、
NCI-H226 (ATCC Number: CRL-5826™) の開発に
対する貢献で広く知られています。

ダコ Envision FLEX 洗浄液 (20 x) (コード: K800721-2) および ダコ Envision FLEX ヘマトキシリン (Autostainer Link 用) (コード: K800821-2) が別途必要です。



技術的留意点

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」キットを用いた検査は、その染色工程のみならず、検体の前処理工程からも大きな影響を受けます。本章では、検査を正しく実施して頂くため、製品の特性と技術的留意点についてご確認ください。

検体の準備

免疫組織化学染色に適した処理をされた検体を用います。形態が保たれ評価するのに十分な数の腫瘍細胞が含まれる部位を選定してください。すべての検体は、標準的な（一般病理検査室の標準的な前処理）方法に準じて処理してください。

施設内コントロール組織

施設内における検体の前処理工程の差異が、結果に大きな影響を与える可能性があります。実施に際し、染色ランごとに、本品中のコントロールスライドに加え、施設内組織を用いた陽性対照および陰性対照のコントロール組織検体を必ず立ててください。

各コントロール組織は、組織検体と同様に腫瘍細胞が含まれる新鮮な検体から選択し、固定、パラフィン包埋などの前処理も組織検体と同様に実施してください。本品中のコントロールスライドは、試薬の妥当性を評価するためのものであり、検体処理の適正を判断するためのものではありません。

各施設でご用意いただく陽性対照コントロール組織には、弱から中等度の細胞膜染色を呈する腫瘍細胞および腫瘍関連単核炎症細胞（MIC: リンパ球とマクロファージ）が含まれることが理想的です。理想的な陰性対照コントロール組織では、腫瘍細胞および免疫細胞は染色されません。しかし、免疫細胞上では PD-L1 の発現率が高いため、若干の染色は許容範囲内です。

追加 (オプション) の 施設内コントロール: 扁桃組織

扁桃組織は、一次抗体で染色すると陰窩上皮が多数強度に染色され、胚中心では濾胞性マクロファージが弱から中等度に染色されます。コントロールに用いる場合には、あらかじめ扁桃組織の染色性を確認してください。内皮細胞、線維芽細胞、表層上皮に PD-L1 タンパクは発現していません。

組織の処理

FFPE 組織での使用は評価済みです。検体は 3 ～ 4mm に切り出し、アルコールでの脱水、キシレン置換を経て、パラフィンを浸透させます。パラフィンの温度は 60 °C を超えないようにしてください。NSCLC 組織サンプルにおいて、10 % 中性緩衝ホルマリンで 12 ～ 72 時間固定で使うことが確認されています。固定が 3 時間以下の組織検体は本検査には使用しないでください。また、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) サンプルでの使用は評価済みですが、脱灰や、他の固定液を使用して処理された組織の評価は実施されておらず、推奨できません。

組織検体は 4 ～ 5 μ m に薄切します。その後、適切なコーティングスライドを使用し、58 \pm 2 °C で 1 時間ベーキングします。保存する場合は、2 ～ 8 °C の冷暗所で保存して 6 か月以内に染色するか (推奨)、25 °C 以下の室温で保存して 4 か月以内に染色してください。

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」染色手順

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の試薬およびプロトコールは適切な結果を出すために最適化されています。このため、試薬を希釈したり、反応時間や温度を変更することは、不適切な結果を招く原因になります。必要な全ステップと各反応時間は DakoLink ソフトウェア上にあらかじめ設定されています。染色には所定のプロトコールを使用してください。

試薬の保管

使用しない時は、本品中のコントロールスライドを含むすべてのキット内の構成成分を、2 ～ 8 °C の冷暗所に保管してください。

試薬の調製

染色前に、使用するすべての試薬を室温 (20 ～ 25 °C) に戻します。パッケージに記載されている使用期限を過ぎている試薬は、絶対に使用しないでください。

抗原賦活液

抗原賦活液を精製水で 50 倍希釈します。30 mL ボトル 1 本で、PT Link のタンク 1 っ分 (1.5 L) が調製できます。希釈後、5 日以内に使用してください (再利用は 3 回まで)。

ダコ Envision FLEX 洗浄液

ダコ Envision FLEX 洗浄液 (20 倍) を、精製水で 20 倍希釈します。希釈後、未使用の洗浄液は、2 ～ 8 °C で 1 か月まで保管できます。液に濁りが観察された場合は、使用せず廃棄してください。

基質溶液

基質緩衝液 1 mL あたり、発色基質を 1 滴加え混合します。調製後は 2 ～ 8 °C の冷暗所で保管し 5 日間使用できます。本基質溶液は使用に先立ち調製し、使用の際には十分に混ぜてから使用します。溶液中に沈殿が生じることがありますが、染色の品質には影響しません。

- － 基質緩衝液 1 本を全量使用する場合には、発色基質を 9 滴を加え混合してください。(ボトルラベルには、7.2 mL と記載されていますが、ボトルにはデッドボリューム分の緩衝液が余分に入っています)
- － 発色基質の溶液の色はさまざまで、透明からラベンダーブラウン色を呈します。この色調の差異は品質に影響しません。上記のガイドラインに従って調製してください。過剰に発色基質を加えると、陽性反応を損なう原因になります。

染色精度管理のためのコントロール

染色ごとに、以下の染色精度管理コントロールを含めてください。

- － 染色ごとに、本品中のコントロールスライドを 1 枚、一次抗体を滴下させるプロトコールで染色
- － 施設内の陽性対照ならびに陰性対照のコントロールに一次抗体を滴下させるプロトコールで染色
- － 続いて、各患者の検体の切片を一次抗体陰性コントロールで染色

脱パラフィン、親水化、および抗原賦活

PT Link の 3-in-1 処理機能を使用して、脱パラフィン、親水化、抗原賦活を実行します。

- － 予熱と冷却を 65 °C に設定し、加熱を 97 °C で 20 分に設定します。
- － PT Link には、1 タンクあたり 1.5 L の抗原賦活液を充填します (組織を完全に浸漬させるため、この量は厳守してください)。
- － 抗原賦活液を 65 °C に予熱します。
- － 組織検体をのせたスライドガラスを Autostainer 用スライドラックに装填し、ラックごと PT Link に浸漬させます。97 °C、20 分で処理します。
- － PT Link リンスステーション (コード: PT10930) には、室温の洗浄液を満たしておきます。
- － 処理が終わり、タンク内の温度が 65 °C に下がったらスライドラックを取り出し、直ちに PT Link リンスステーションに移し、5 分間浸漬します。

染色および対比染色

- － スライドガラスを装填したスライドラックをダコ Autostainer Link 48 にのせます。
- － スライドの装填中または機器の準備中にスライドが乾かないよう、装填後直ちに、スライド表面にダコ EnVision FLEX 洗浄液をかけてください。組織の乾燥は、非特異染色の原因になります。
- － PD-L1 IHC 22C3 pharmDx 「ダコ」プロトコールを選択します。あらかじめプログラミングされた手順に則って染色および対比染色が実施されます。
- － 対比染色には、ダコ EnVision FLEX ヘマトキシリン (Autostainer Link 用)、コード: K800821-2 を使用します。

封入

非水溶性封入剤を使用してください。封入後の退色を防ぐため、スライドは室温 (20 ～ 25 °C) 暗所で保管してください。

テクニカルチェックリスト

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」を正しくご使用頂くために、本チェックリストをご利用ください。

施設名/所属 _____

氏名と職名 _____

ダコ Autostainer Link 48 シリアル番号 _____ ソフトウェアバージョン _____

	はい	いいえ
ダコ Autostainer Link 48 と PT Link に対し、定期的なメンテナンスを実施していますか？	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」キットパッケージに表記されている有効期限を遵守していますか？	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
本品中のコントロールスライドおよびすべての PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」構成試薬は、2 ～ 8 °C の暗所に保管されていますか？	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
本品中のコントロールスライドおよびすべての PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」構成試薬は、染色前に室温 (20 ～ 25 °C) に戻しましたか？	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
施設内陽性対照・陰性対照のコントロールスライドには、頭頸部癌症例組織を選択しましたか？	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
組織は 10 % 中性緩衝ホルマリンで固定していますか？	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
組織へのパラフィン浸透は 60 °C 以下で実施しましたか？	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
組織は 4 ～ 5 μm に薄切し、コーティングスライドを使用していますか？	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
組織検体を 58 ± 2 °C で 1 時間ベーキングしましたか？	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
保管されていた未染スライドを使用した場合、その組織検体は、薄切後 6 か月以内 (2 ～ 8 °C) または 4 か月以内 (室温 25 °C まで) のものですか？	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
抗原賦活液は、正しく調製しましたか？ (希釈後の抗原賦活溶液の pH は 6.1 ± 0.2 である必要があります。)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
洗浄液は適切に調製していますか？	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
基質溶液は適切に調製していますか？	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
対比染色には、ダコ Envision FLEX ヘマトキシリン (Autostainer Link 用) を使用していますか？	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
脱パラフィン・親水化・抗原賦活は、PT Link (3-in-1 処理) で実施しましたか？	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
スライドを機器へ搭載時、機器の準備中に、スライド表面が乾燥ないように洗浄液をかけて湿潤状態を保っていますか？	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
染色に際し、ダコ Autostainer Link 48 上で PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」プロトコールを選択しましたか？	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」プロトコールを実施するにあたり、必要な試薬や備品はすべて準備できていますか？	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
不足しているものがあれば、以下のコメント欄に記載してください。		

追加事項またはコメント:

スライドの評価

一般的留意点

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の結果は、光学顕微鏡を用いて観察し、病理医が判定してください。スコアリング方法については、30 ページを参照してください。組織検体の判定に先立ち、本品中のコントロールスライドで染色性の妥当性を確認してください。

最も信頼できる検査結果を出すために、3 枚の連続切片を作成し、HE、一次抗体染色、一次抗体陰性コントロールでの染色を実施してください。HE 染色標本上で該当腫瘍細胞が確認できれば、残りの連続切片の妥当性も担保されることになります。

本品中のコントロールスライドは、ランごとに必ず 1 枚染色してください。コントロールスライドの評価方法は 19 ページに記載されています。また、施設内コントロールスライドもランごとに加え染色してください。

組織の評価基準

適切な腫瘍細胞が 100 個以上あることを確認

まず組織の HE 染色を実施して、組織検体の妥当性を確認してください。HE 染色と PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」での染色には、同ブロックから作製された連続切片を用いてください。組織検体は形態が保たれており、保存状態がよいものである必要があります。また、適応腫瘍を確認してください。

腫瘍細胞が 100 個に満たない場合には、正しく評価できないと判断し、検体不適としてください。

腫瘍細胞が 100 個 未満の検体

ブロックを深く切り込むことで必要な腫瘍細胞を得られたり、別のブロックを採用することで十分数の細胞を得られる場合があります。

コントロールの評価

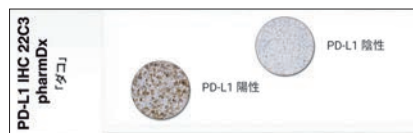


図 6: 本品中のコントロールスライドには、PD-L1 発現陽性と陰性の細胞が含まれています。

本品中のコントロールスライド

本品中のコントロールスライドを観察し、試薬の性能に問題がないかを評価してください。本品中のコントロールスライドには、PD-L1 陽性対照ならびに陰性対照のセルブロック切片が貼付されています (図 6)。両方の細胞中の陽性細胞の割合、染色強度、および非特異的染色を評価します。コントロール検体の染色性が不十分だと判断された場合には、同ランで染色されたすべての組織検体結果を無効とみなします。本品中のコントロールスライドを、結果の解釈に使用しないでください。

下記のガイドラインに従って、全体の染色強度をスコアリングしてください。

0	陰性
1+	弱陽性
2+	中等度陽性
3+	強陽性

陽性対照のコントロール細胞

以下の染色性を満たしている場合、PD-L1 陽性とします (図 7)。

- － 細胞の 70 % 以上の細胞膜染色
- － 平均染色強度 2+ 以上
- － 染色強度 1+ 未満の非特異的染色

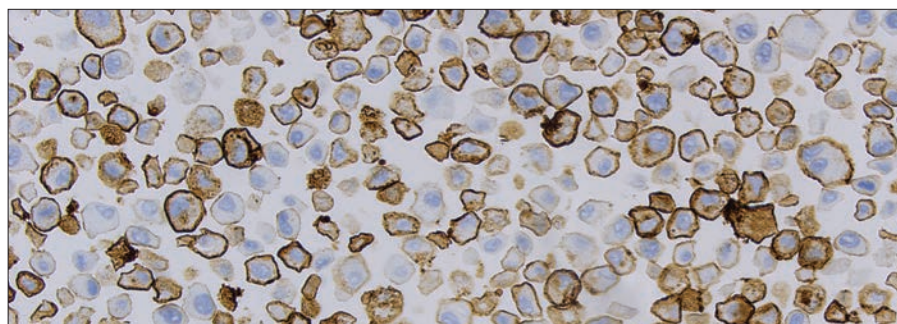


図 7: 本品中のコントロールスライド (陽性対照のコントロール細胞) の染色性 (20 倍拡大)

陰性対照のコントロール細胞

以下の染色性を満たしている場合、PD-L1 陰性とします (図 8)。

- － 大部分の細胞が染色されていない。**注意事項:** 明らかな細胞膜陽性像を認めても、その数が 10 個以下である場合には陰性と判断してよい。
- － 染色強度 1+ 未満の非特異的染色

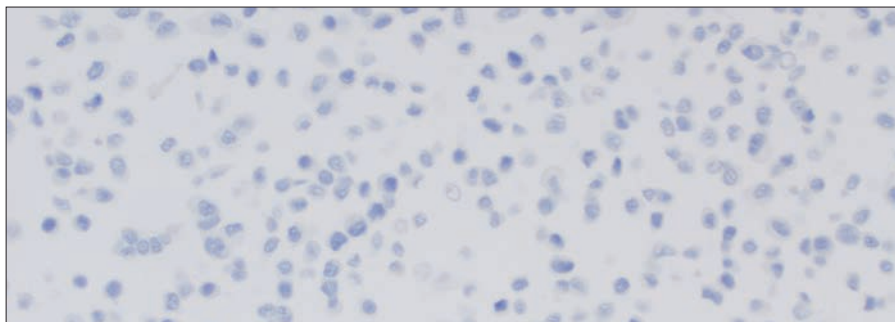


図 8: 本品中のコントロールスライド (陰性対照のコントロール細胞) の染色性 (20 倍)

陽性および陰性対照の施設内コントロール組織 (頭頸部癌)

施設内陽性対照のコントロールを観察し、組織が適切に処理され、試薬で正しく染色できていることを確認してください。陽性コントロール組織には、弱から中等度の細胞膜染色を呈する腫瘍細胞および腫瘍関連単核炎症細胞 (MIC) が含まれることが理想的です (図 9)。陽性の施設内コントロールの染色性が不十分だと判断された場合には、同ランで染色されたすべての組織検体結果を無効とみなします。

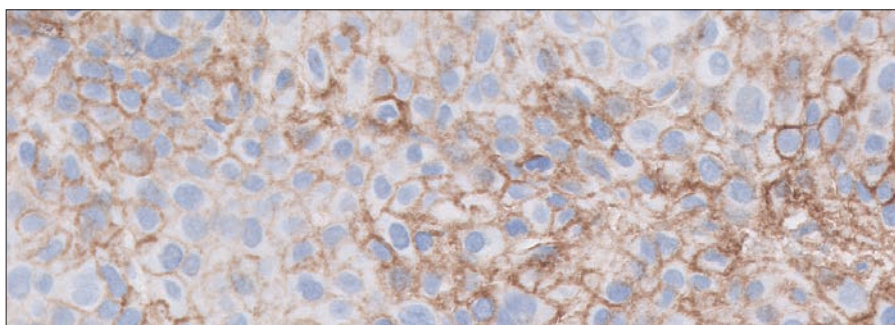


図 9: 施設内陽性対照組織 (20 倍)

理想的な頭頸部癌陰性対照のスライドでは、腫瘍細胞および免疫細胞は染色されません (図 10)。しかし、免疫細胞上では PD-L1 の発現率が高いため、若干の染色は許容範囲内です。検査室内での陰性対照のコントロールスライドを染色して、期待される染色結果が得られたかを判定してください。各施設の陽性対照・陰性対照のコントロール組織は、検査対象の患者検体と同じスライド上に貼付すると、より厳密に染色の妥当性を確認することができます。

万が一、施設内コントロール組織に不適当な染色像を認めた場合には、同ランで染色されたすべての組織検体結果を無効とみなします。

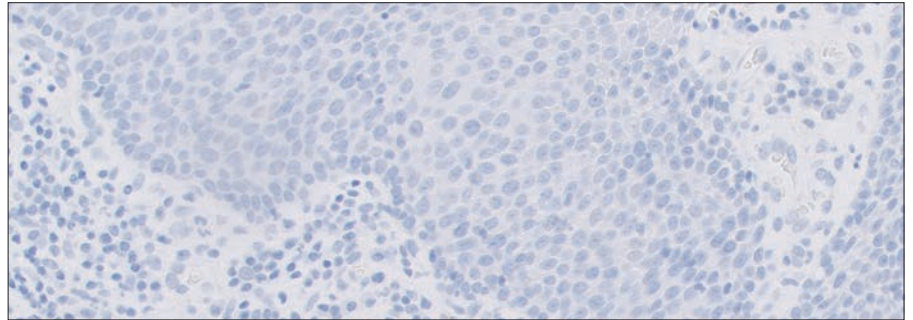


図 10: 腫瘍細胞および MIC (20 倍拡大) の両方が陰性を呈する施設内陰性コントロール組織

オプションのコントロール組織

コントロールスライドおよび施設内コントロール組織に加えて、FFPE 扁桃組織もコントロール組織として使用することができます。一次抗体で染色すると陰窩上皮が多数強度に染色され、胚中心では濾胞性マクロファージが弱から中程度に染色されます (図 11)。内皮細胞、線維芽細胞、表層上皮には PD-L1 発現を認めません。

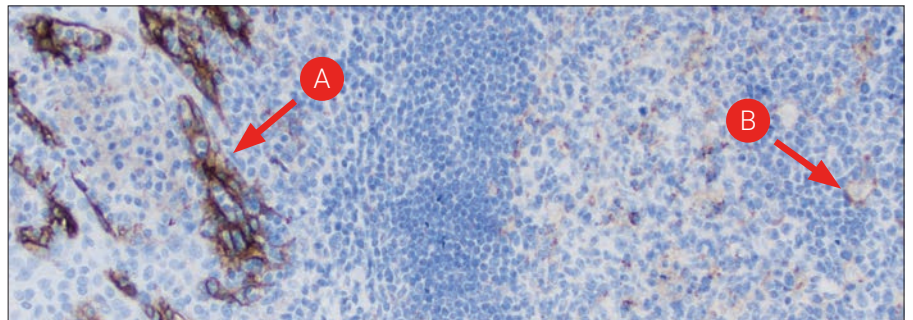


図 11: PD-L1 一次抗体で染色した扁桃組織は、陰窩上皮で部分的に強い膜染色を示し (A)、胚中心で濾胞性マクロファージに弱から中程度の膜染色を示します (B) (対物レンズ 10 倍)。

施設内コントロール細胞を、結果の解釈の補助として使用しないでください。

一次抗体陰性コントロール

一次抗体陰性コントロールで染色したスライドを観察し、一次抗体染色スライドの判定を妨げ、組織を評価不能にする可能性のある非特異的バックグラウンド染色が存在するかどうかを確認します。細胞膜が染色されていないことが必要です (図 12)。

一次抗体陰性コントロールで染色した組織検体スライドを観察し、一次抗体染色スライドの判定を妨げになる可能性のある非特異的染色が存在するかどうかを確認します。

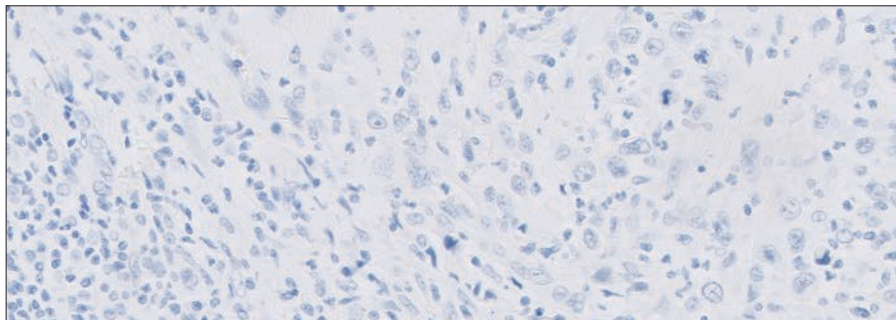


図 12: 一次抗体陰性コントロールで染色した HNSCC 組織検体 (対物レンズ 20 倍)

一次抗体陰性コントロールで染色した検体と照らし合わせることで、一次抗体で染色した検体上の非特異的な染色を把握でき、より正確に判定することが可能です。

スライド評価フローチャート

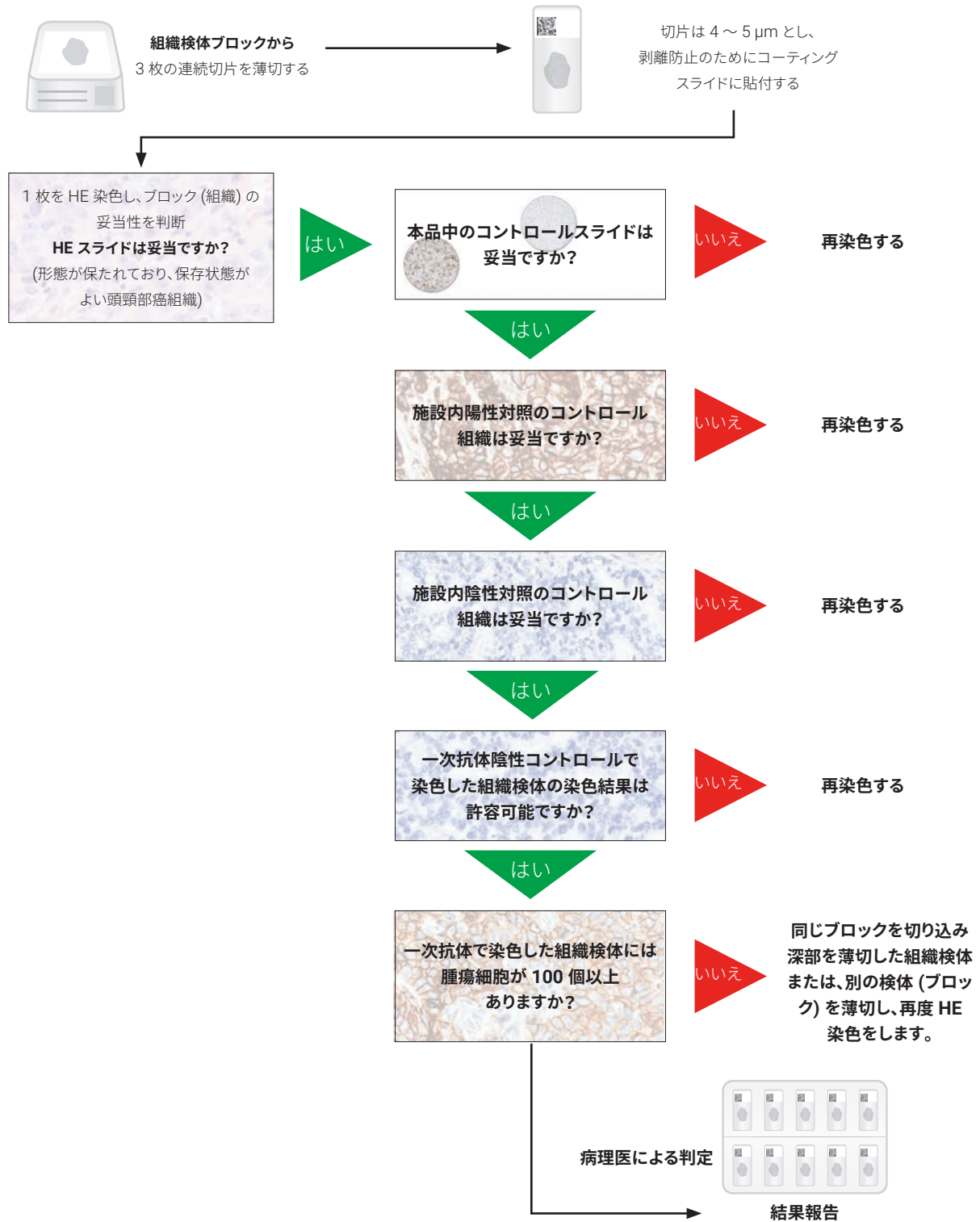


図 13: スライド評価の推奨される順番

Combined Positive Score (CPS)

Combined Positive Score (CPS) の定義

頭頸部癌における PD-L1 発現率は、PD-L1 抗体で染色した PD-L1 陽性細胞（腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ*）の数を総生存腫瘍細胞数で割り、100 を掛けた Combined Positive Score (CPS) を用いて決定します。計算結果が 100 を超過することもあります。最高点を CPS 100 として定義します。

CPS は以下のとおり定義します。

$$\text{CPS} = \frac{\text{PD-L1 陽性細胞数} \\ (\text{腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ})}{\text{生存腫瘍細胞の総数}} \times 100$$

* マクロファージと組織球は同じ細胞と判断します。

CPS の分子の組み入れ/除外基準

細胞質染色とは区別される、陽性腫瘍細胞のはっきりとした部分的または完全な細胞膜染色（強度 1+ 以上）は、PD-L1 発現としてスコアリングに含めます。

腫瘍巣や隣接する支持間質組織内のリンパ球およびマクロファージ（単核炎症細胞、MIC）の細胞膜染色または細胞質染色（強度 1+ 以上）は、PD-L1 発現として CPS の分子に含めます。腫瘍に対する応答に直接関連する MIC のみをスコアリングします。

その他の CPS の組み入れ/除外基準については、26 ページの表 1 および 2 を参照してください。

Combined Positive Score (CPS) の決定

- 低倍率にて、良好に形態が保持されている全腫瘍細胞領域を観察します。PD-L1 陽性及び陰性の腫瘍細胞の全領域を評価します。陽性と判断するためには、部分的または完全な細胞膜染色を呈している必要がありますが、低倍率での観察では膜染色の評価に注意を要することがある点に留意してください。組織検体上に 100 個以上の判定対象の腫瘍細胞が存在することを確認してください。
 - PD-L1 染色スライド (生検および切除検体) の腫瘍細胞が 100 個に満たない場合には、正しく評価できないと判断し、検体不適としてください。
- 腫瘍細胞が 100 個に満たない場合には、ブロックを深く切り込むことで必要な腫瘍細胞を得られたり、別のブロックを採用することで十分数の細胞を得られる場合があります。
- 高倍率 (20 倍) で PD-L1 発現率を評価して CPS を計算してください。
 - 腫瘍細胞の合計数 (PD-L1 陽性および陰性) を決定します (CPS の分母)。
 - PD-L1 陽性細胞数 (腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ) (CPS の分子。その他の CPS の組み入れ/除外基準については、26 ページの表 1 および 2 を参照) を決定します。
 - CPS を計算します。
- 細胞膜染色は 20 倍程度の対物レンズで評価します。スライドの評価者は、40 倍の対物レンズで CPS 計算を行わないでください。

表 1: CPS の分子の組み入れ/除外基準

組織成分	分子への組み入れ	分子からの除外
腫瘍細胞	浸潤腫瘍細胞のはっきりとした部分的または完全な細胞膜染色 (強度 1+ 以上)	<ul style="list-style-type: none"> 陰性腫瘍細胞 細胞質染色のみの腫瘍細胞
免疫細胞	腫瘍巣および隣接する支持間質組織内の単核炎症細胞 (MIC) の細胞膜染色または細胞質 * 染色 (強度 1+ 以上) †: <ul style="list-style-type: none"> リンパ球 (リンパ球凝集含む) マクロファージ ‡ 腫瘍に対する応答に直接関連する MIC のみがスコアリングされます。	<ul style="list-style-type: none"> 陰性 MIC 潰瘍あるいは他の炎症プロセスに関連する MIC (リンパ球凝集含む) 上皮内癌に関連する MIC 良性病変に関連する MIC 好中球、好酸球および形質細胞
その他の細胞	除外	<ul style="list-style-type: none"> 上皮内癌 良性細胞 間質細胞 (線維芽細胞含む) 壊死細胞または細胞片

* MIC では、細胞質に対する細胞核の比率が高いため、多くの場合細胞膜染色と細胞質染色とは判別不能です。このため、MIC の細胞膜または細胞質染色はスコアリングに含まれます。

† 隣接する MIC は腫瘍と同じ 20 倍視野内にあると定義されます。しかし、腫瘍に対する反応に直接関連しない MIC は除外されます。

‡ マクロファージと組織球は同じ細胞と判断します。

表 2: CPS の分母の組み入れ/除外基準

組織成分	分母への組み入れ	分母からの除外
腫瘍細胞	全浸潤腫瘍細胞	すべての壊死細胞または非生存腫瘍細胞
免疫細胞	除外	すべての種類の全免疫細胞
その他の細胞	除外	<ul style="list-style-type: none"> 上皮内癌 良性細胞 間質細胞 (線維芽細胞含む) 壊死細胞または細胞片

推奨メソッド

スコアリングは病理医が実施してください。ここでは例として 3 つの評価方法を示します。種々の染色パターンにおいて個々の Combined Positive Scores (CPS) を決定する方法として参考にしてください。

IHC スライド全体を評価して、どの方法を使用するかを決めてください。

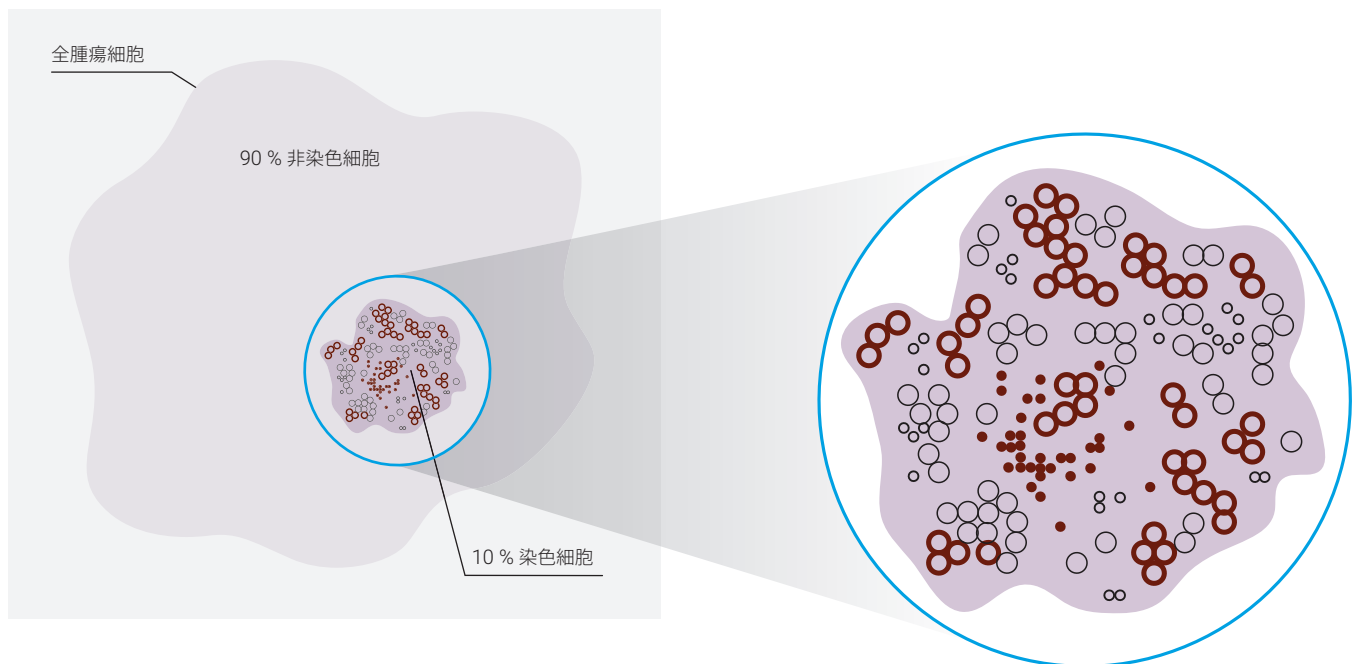
例 1: 狭い PD-L1 陽性領域に基づく Combined Positive Score (CPS) の計算

まず、25 ページの「Combined Positive Score (CPS) の決定」の記載に従って、明瞭に染色された腫瘍領域を評価します。

判定: 全腫瘍領域の 90 % は染色されておらず、染色領域は 10 %

次に、染色領域を評価し、PD-L1 陽性細胞数 (腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ) を概算します。

判定: 腫瘍細胞が約 100 個と PD-L1 陽性細胞が約 80 個 (CPS の分子) 存在します。



腫瘍細胞領域全体の Combined Positive Score (CPS) を計算します。

判定:

染色領域の CPS

$$\text{CPS} = \frac{\text{PD-L1 陽性細胞数}^{\S}}{\text{生存腫瘍細胞の総数}} \times 100 = \frac{\text{PD-L1 陽性細胞数約 80 個}}{\text{腫瘍細胞数 100 個}} \times 100 = 80$$

全腫瘍領域の CPS $10\% \times 80 \approx \text{CPS } 8$

- PD-L1 陽性腫瘍細胞
- 陰性腫瘍細胞
- PD-L1 陽性単核炎症細胞数
- 陰性単核炎症細胞数

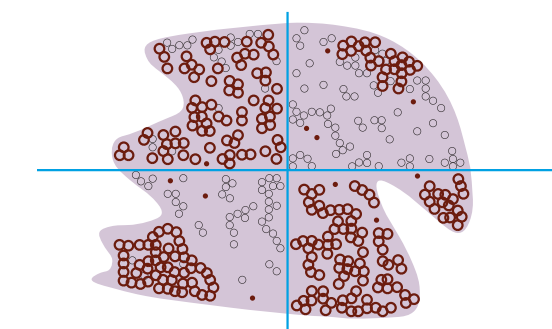
臨床的な判定: $\text{CPS} \geq 1$

[§] 腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ含む

図 14: PD-L1 陽性領域が狭い腫瘍の例

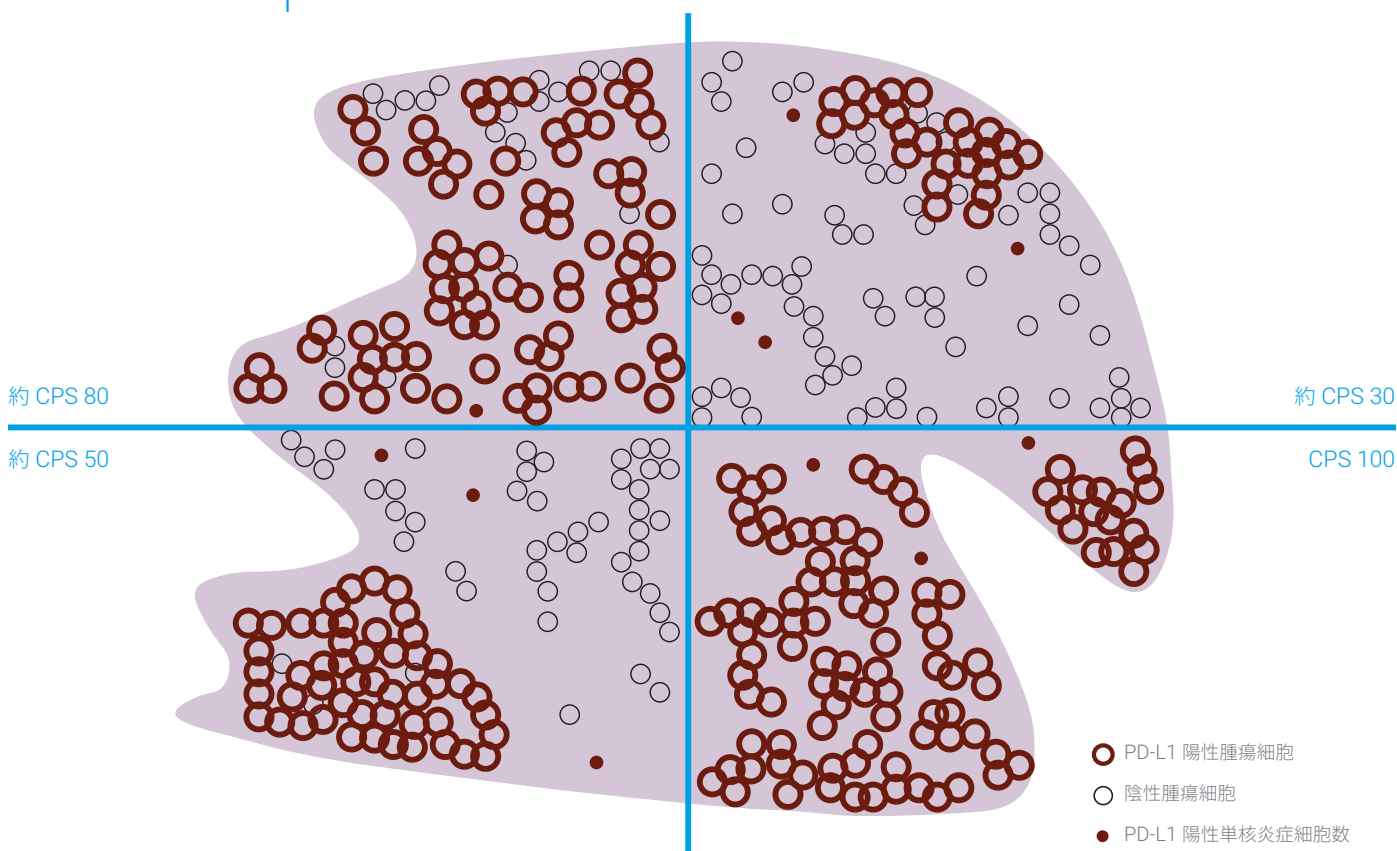
例 2: 不均一な PD-L1 陽性領域に基づく Combined Positive Score (CPS) の計算

まず、腫瘍細胞数が等しくなるように腫瘍領域を視覚的に分割します。



次に、各領域を観察して、生存腫瘍細胞数および PD-L1 陽性細胞数 (腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ) の総数を推定します。各領域の Combined Positive Score (CPS) を計算します。

判定: 4 つの領域には PD-L1 陽性細胞 (腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ) が約 80、30、50 および 100 個存在します。各領域には腫瘍細胞 (PD-L1 陽性細胞含む) が合計 100 個存在します。各領域の CPS: 約 CPS 80、約 CPS 30、約 CPS 50、約 CPS 100



腫瘍細胞領域全体の Combined Positive Score (CPS) を計算します。

判定:

Combined Positive Score (CPS):

$(80 + 30 + 50 + 100) / 4 \approx \text{CPS } 65$

$$\text{CPS} = \frac{\text{PD-L1 陽性細胞数 (腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ)}}{\text{生存腫瘍細胞の総数}} \times 100$$

臨床的な判定: $\text{CPS} \geq 20$

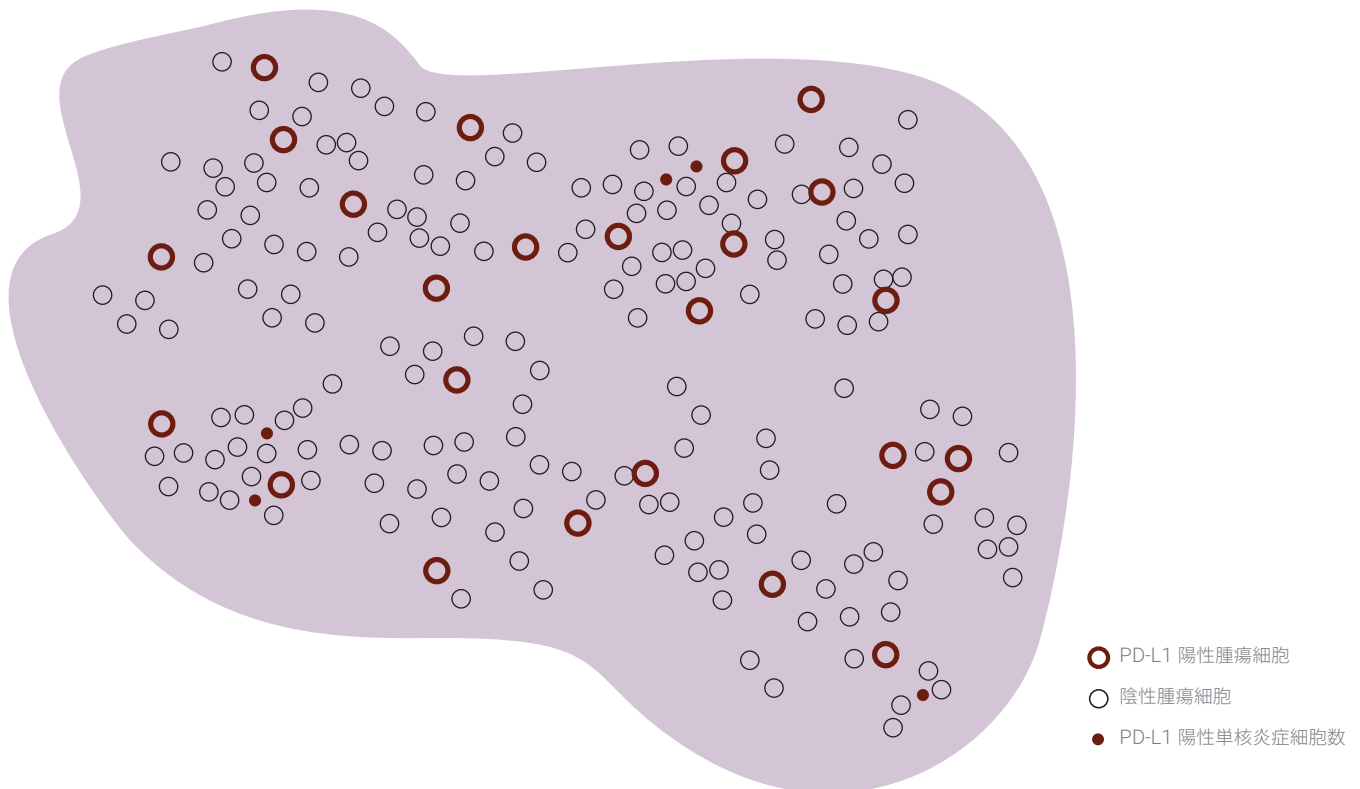
図 15: PD-L1 陽性領域が不均一な腫瘍の例:

例 3: カットオフ付近の検体の Combined Positive Score (CPS) の計算

まず、25 ページの「Combined Positive Score (CPS) の決定」の記載に従って、明瞭に染色された検体を評価します。

次に、低倍率では非染色に見えた領域に陽性所見がないことを確認します。染色領域を評価し、PD-L1 陽性細胞数 (腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ) を推定します。その後、検体全体 (染色領域および非染色領域) を再評価して、総腫瘍細胞数 (PD-L1 陽性および陰性の腫瘍細胞) を概算します。Combined Positive Score (CPS) を計算します。

判定: 腫瘍検体には、明瞭な陽性細胞が認められます。PD-L1 陽性細胞数 (腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ) が 30 個存在します。全検体中に生存腫瘍細胞が約 200 個存在します。



腫瘍細胞領域全体の Combined Positive Score (CPS) を計算します。

判定:

Combined Positive Score (CPS):

$$\text{CPS} = \frac{\text{PD-L1 陽性細胞数}^*}{\text{生存腫瘍細胞の総数}} \times 100 = \frac{\text{PD-L1 陽性細胞数 30 個}}{\text{腫瘍細胞数 200 個}} \times 100 = \text{CPS 15}$$

臨床的な判定: $\text{CPS} \geq 1$

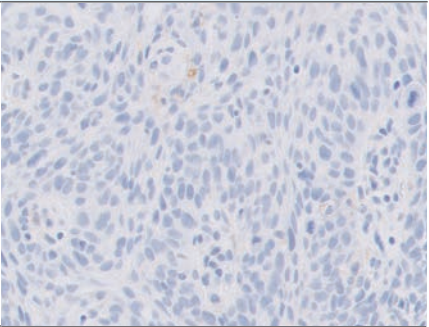
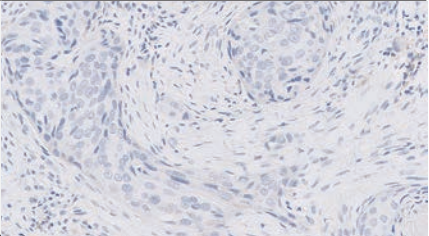
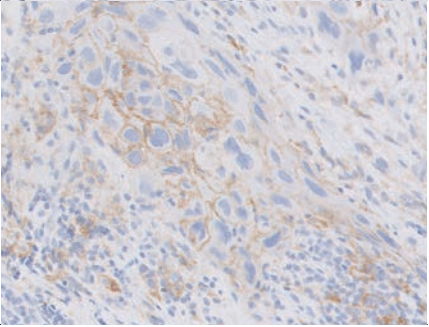
* 腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ含む

図 16: カットオフ付近の検体の例

CPS の判定

Combined Positive Score (CPS) を用いて PD-L1 発現レベルを判定します。スコアリング判定の例は、下記の表をご覧ください。

表 3: CPS および対応する PD-L1 発現レベル

CPS	PD-L1 発現レベル	画像 (対物レンズ 20 倍)
< 1	CPS が 1 未満	
≥ 1	CPS が 1 以上	
≥ 20	CPS が 20 以上	

治療対象となる頭頸部癌患者の選定

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」は、キイトルーダ® (ペムブロリズマブ) の投与により生存率の改善が認められる可能性のある頭頸部癌患者を特定できる唯一の承認済 PD-L1 アッセイです。

未治療頭頸部扁平上皮癌患者に対する PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」を用いた臨床試験

再発又は転移性の頭頸部扁平上皮癌 (HNSCC) 患者の PD-L1 発現を評価する PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の臨床的妥当性は、Merck & Co. 社によるキイトルーダの KEYNOTE-048 試験をベースとしています。PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」を使用して、再発又は転移性の頭頸部扁平上皮癌患者由来の検体の PD-L1 発現試験が行われました。キイトルーダ単独療法群および標準治療*群では、HNSCC 登録患者の 85 % に Combined Positive Score (CPS) が 1 以上の PD-L1 発現腫瘍が認められ、患者の 43 % に CPS が 20 以上の PD-L1 発現を示す腫瘍が認められました (表 4)。キイトルーダ治療の臨床上の有効性については、63 ~ 67 ページの臨床性能評価の章で説明します。

表 4: KEYNOTE-048 に登録された転移性または再発性の HNSCC 患者における PD-L1 発現率

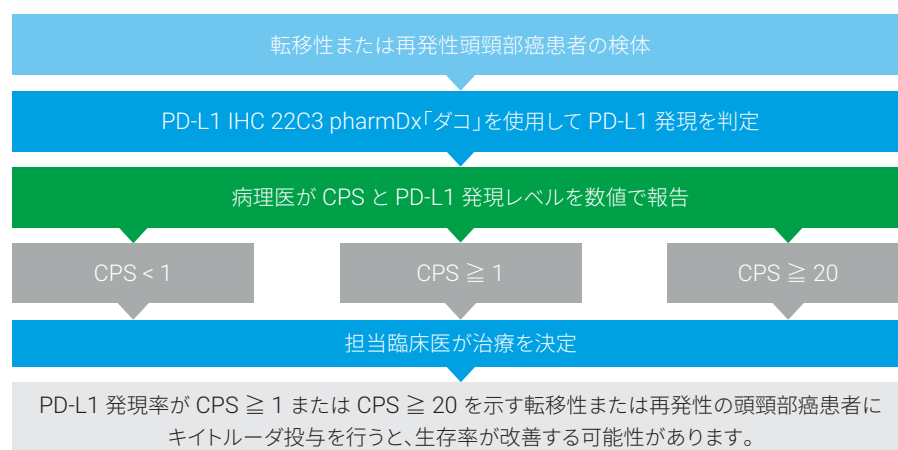
PD-L1 発現	CPS < 1	CPS ≥ 1	CPS ≥ 20†
患者 % (n)	15 % (89)	85 % (512)	43 % (255)

* セツキシマブ、プラチナ製剤、および 5-FU

† PD-L1 発現率が既知の患者に基づく CPS 20 以上の発現率計算。4 名の患者は PD-L1 発現レベルが不明

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」検査の流れ

以下のフローチャートを用いて、CPS に基づいてキイトルーダ治療を行った際に、どの患者の生存率が改善する可能性があるかを確認することができます。



結果の報告

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の結果報告の際には下記の内容を含めることが推奨されます。

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の検査内容など:

検査日: _____

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」ロット番号: _____

染色実行ログ ID: _____

検体 ID: _____

患者番号: _____

検査タイプ: マニュアル判定による IHC 染色

その他: _____

施設の頭頸部癌パネルに PD-L1 が含まれている: はい: ☐ いいえ: ☐

染色結果:

本品中のコントロールスライド染色結果: 合: ☐ 否: ☐

十分な腫瘍細胞数 (100 個以上): はい: ☐ いいえ: ☐

治療担当医師への結果報告

Combined Positive Score (CPS): _____

CPS < 1: ☐ CPS ≥ 1: ☐ CPS ≥ 20: ☐

担当医へのコメント:

- PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」によって PD-L1 発現が検出された頭頸部癌患者にキイトルーダ® (ペムブロリズマブ) を投与すると、生存率が改善する可能性があります。

Combined Positive Score (CPS) の要約および症例

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」 での染色結果判定における 注意事項

頭頸部癌における PD-L1 陽性細胞の定義は以下のとおりです。

- 細胞質染色とは区別される、明瞭な部分的または完全な細胞膜染色 (強度 1+ 以上) のある腫瘍細胞
- 細胞膜染色または細胞質染色 (強度 1+ 以上) のある、腫瘍巣や隣接する支持間質組織内のリンパ球およびマクロファージ (単核炎症細胞、MIC)。MIC は腫瘍に対する反応に直接関連していなければなりません。

頭頸部癌における PD-L1 発現状態は、PD-L1 抗体で染色した PD-L1 陽性細胞 (腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ) の数を総生存腫瘍細胞数で割り、100 を掛けた Combined Positive Score (CPS) によって決定します。

$$\text{CPS} = \frac{\text{PD-L1 陽性細胞数 (腫瘍細胞、リンパ球、マクロファージ)}}{\text{生存腫瘍細胞の総数}} \times 100$$

この章は、Combined Positive Score (CPS) を正しく決定するためのスコアリングの組み入れおよび除外の基準を定義および説明します。子宮頸部の扁平上皮細胞癌である図 35 を除き、画像はすべて HNSCC のものです。

頭頸部扁平上皮癌症例の さまざまな染色像とその解釈

Combined Positive Score (CPS) に含まれる PD-L1 陽性細胞

適切な PD-L1 発現を示す腫瘍細胞、リンパ球、およびマクロファージを、PD-L1 陽性細胞と定義します。PD-L1 陽性細胞はすべてCPS の分子に含めてCombined Positive Score (CPS) (その他の CPS 組み入れ/除外基準については、26 ページの表 1 および 2 を参照) を算出します。腫瘍細胞はすべて分母に組み入れます。CPS の分子に含めなければならない PD-L1 陽性細胞の共通の染色特性を以下に示します。図に別途説明のない限り、画像はすべて HNSCC のものです。

腫瘍細胞

細胞膜染色

明らかな部分的または完全な膜染色や顆粒状の細胞膜染色を示す腫瘍細胞は PD-L1 陽性細胞と考えられます。細胞膜染色は染色強度を問わず存在し、対物レンズ 20 倍まででははっきりと認識できなければなりません。

明らかな細胞膜染色を示す腫瘍細胞には多くの場合不均一で、種々の染色強度が存在します。

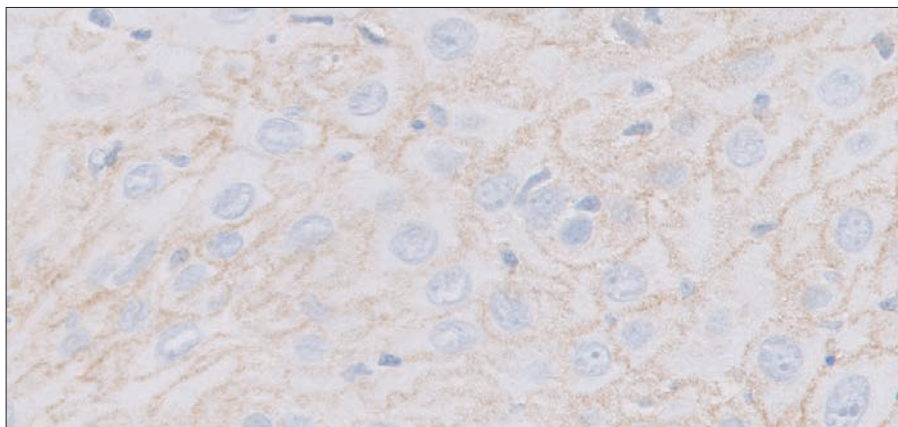


図 18a: PD-L1 一次抗体で染色した頭頸部扁平上皮癌検体 (対物レンズ 20 倍)。強度 1+ の細胞膜染色を呈する腫瘍細胞が認められます。

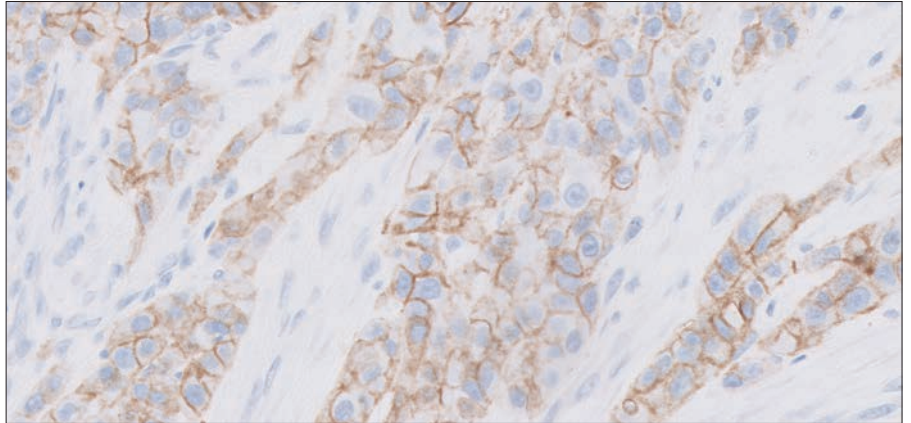


図 18b: PD-L1 一次抗体で染色した頭頸部扁平上皮癌検体 (対物レンズ 20 倍)。強度 2+ の細胞膜染色を呈する腫瘍細胞が認められます。

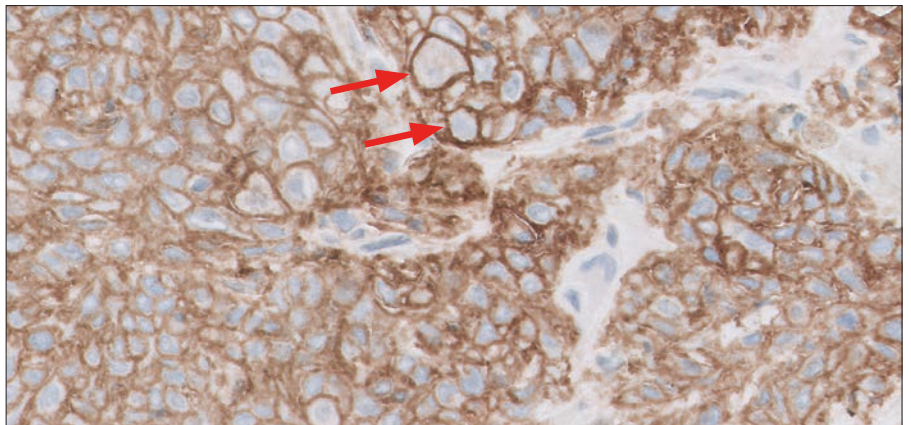


図 18c: PD-L1 一次抗体で染色した HNSCC 検体 (矢印) (対物レンズ 20 倍)。強度 3+ の細胞膜染色を呈する腫瘍細胞が認められます。

重要なポイント

強度 1+ 以上の明らかな細胞膜染色を呈する腫瘍細胞は CPS の分子に含めます。

部分的な細胞膜染色

腫瘍細胞は部分的な細胞膜染色を示す場合があります。対物レンズ 20 倍で観察される強度 1+ 以上の部分的な細胞膜染色は CPS の分子に含めます。

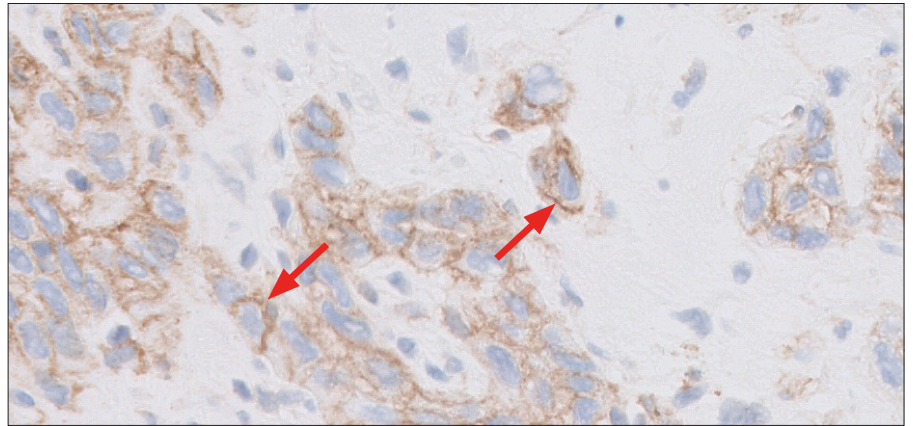


図 19: PD-L1 一次抗体で染色した HNSCC 検体 (矢印) (対物レンズ 20 倍)。腫瘍細胞に部分的な細胞膜染色が認められます。

重要なポイント

明らかに部分的な細胞膜染色を呈する腫瘍細胞は CPS の分子に含めます。

細胞膜染色および細胞質染色

対物レンズ 20 倍で、明らかな細胞膜染色 (強度 1+ 以上) および細胞質染色の両方を示す腫瘍細胞は CPS の分子に含めます。細胞質染色のみを示す腫瘍細胞は、非特異的染色と考えられるため、CPS の分子から除外します。さらに、腫瘍細胞は、顆粒状の PD-L1 細胞膜染色を呈することがあります。部分的または完全な細胞膜染色が細胞質染色とは異なる場合、その細胞は CPS の分子に含めます。

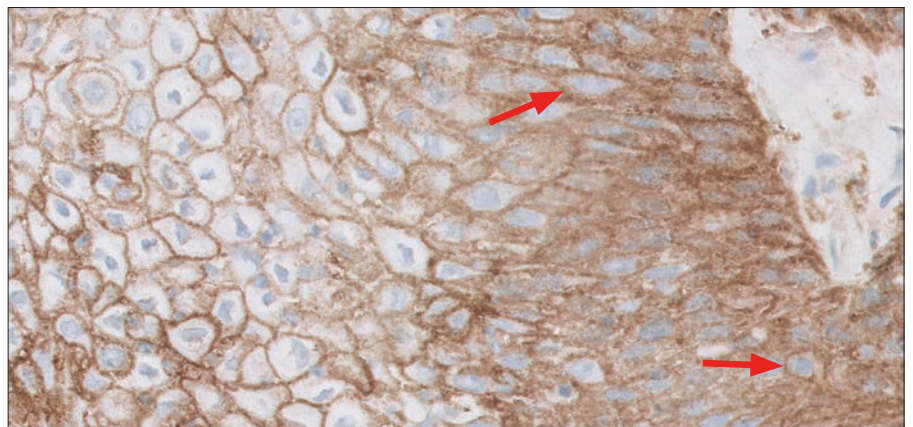


図 20: PD-L1 一次抗体で染色した HNSCC 検体 (矢印) (対物レンズ 20 倍)。腫瘍細胞に細胞質染色とは区別される細胞膜染色が認められます。

重要なポイント

細胞質染色とは異なる明らかに細胞膜染色を示す腫瘍細胞は CPS の分子に含めます。

顆粒状の染色

腫瘍細胞は、細胞膜染色と細胞質染色が区別できない顆粒状の細胞膜染色パターンを示す場合があります。対物レンズ 20 倍以下で明らかに細胞膜染色と判定できる腫瘍細胞 (強度 1+ 以上) のみを CPS の分子に含めます。

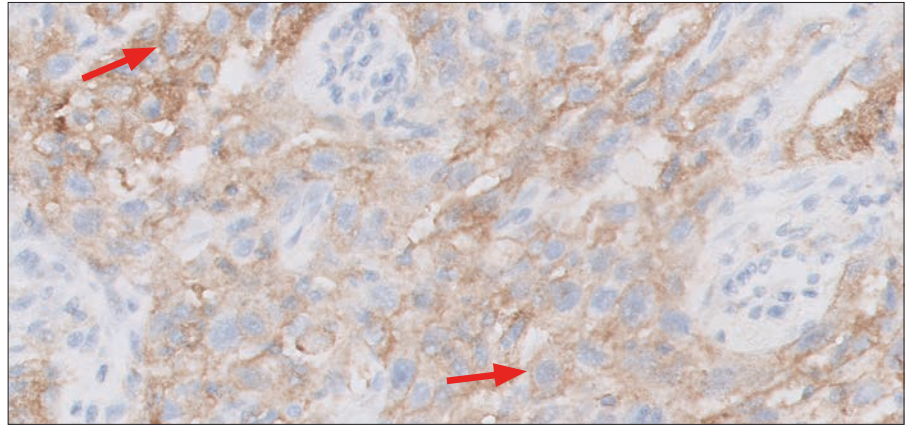


図 21: PD-L1 一次抗体で染色した HNSCC 検体 (矢印) (対物レンズ 20 倍)。顆粒状の細胞膜染色パターンが認められます。

重要なポイント

顆粒状の染色を呈する腫瘍細胞は、明らかに細胞膜と判定できる細胞のみを CPS の分子に含めます。

多核腫瘍細胞

HNSCC の一部の腫瘍細胞は多核性の場合があり、多核腫瘍細胞はそれぞれ 1 細胞として数えます。分子と分母への組み入れには同じ規則を適用します。すなわち、生存腫瘍細胞はすべて分母に組み入れ、部分的または完全な細胞膜染色を示す腫瘍細胞はすべて分子に組み入れます。さらに、HNSCC では多核性のマクロファージがよく見られるため、こうした細胞が PD-L1 陽性である場合、それらは 1 細胞として数えて分子に含めます。

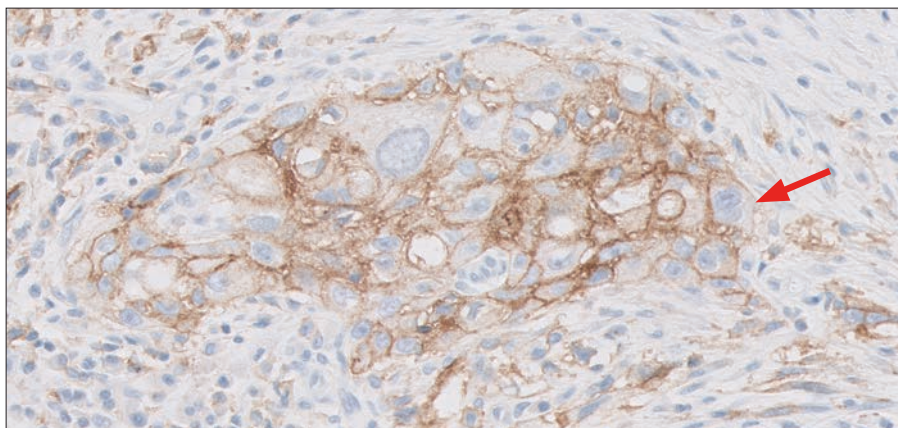


図 22: 多核腫瘍細胞 (矢印) (対物レンズ 20 倍)

重要なポイント

多核腫瘍細胞は HNSCC に見られ、単核腫瘍細胞と同じ組み入れ/除外基準を適用することができます。

免疫細胞

腫瘍関連単核炎症細胞 (MIC)

対物レンズ 20 倍 (強度 1+ 以上) で細胞膜染色または細胞質染色を示す、腫瘍関連リンパ球およびマクロファージ (単核炎症細胞、MIC) は、PD-L1 陽性細胞と考えられるため CPS の分子に含めます。腫瘍関連 MIC は腫瘍巣や隣接する支持間質細胞内に存在し、腫瘍に対する反応に直接関連があります。

腫瘍関連リンパ球およびマクロファージ (細胞膜または細胞質) の染色は、多くの場合不均一で染色強度はさまざまです。

注意事項: PD-L1 発現リンパ球は、細胞質に対する細胞核の比率が高いために細胞膜染色と細胞質染色が区別できないことが多くあります。PD-L1 発現マクロファージでは多くの場合、明確な細胞膜染色と低度の細胞質染色が認められます。PD-L1 陽性の腫瘍関連 MIC はすべて、CPS の分子に含めます。

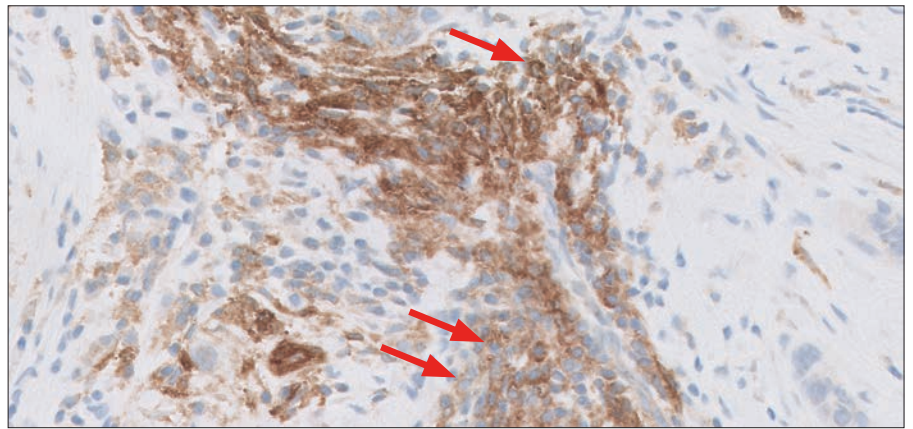


図 23a: PD-L1 一次抗体で染色した HNSCC 検体 (矢印) (対物レンズ 20 倍)。腫瘍関連リンパ球の染色が認められます。

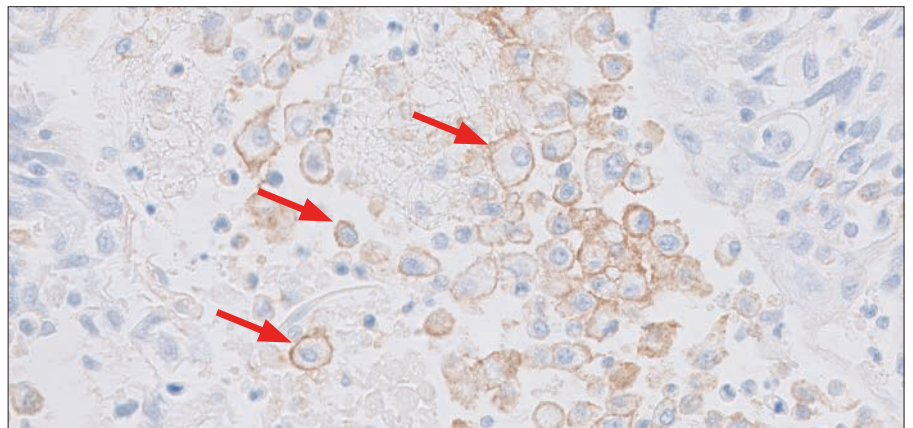


図 23b: PD-L1 一次抗体で染色した HNSCC 検体 (矢印) (対物レンズ 20 倍)。腫瘍関連マクロファージの染色が認められます。

重要なポイント

細胞膜染色または細胞質染色を示す腫瘍関連リンパ球およびマクロファージは CPS の分子に含めます。

免疫細胞の組み入れ/除外: 20 倍ルール

PD-L1 発現単核炎症細胞 (MIC) を CPS の分子に含めるには、腫瘍に対する反応に直接関連していなければなりません。MIC が対物レンズ 20 倍視野内の腫瘍巣や隣接した支持間接細胞内にある場合には、腫瘍に関連すると考えられます。MIC の腫瘍関連性の判別が困難な場合、推奨するガイドラインを以下に示します。

スライドを移動して、腫瘍が 20 倍視野のほぼ中心にくるようにします。この視野での腫瘍の周囲の免疫細胞をスコアリングに含めます。この視野外の免疫細胞は、腫瘍細胞の周囲にない限り、スコアリングから除外します。概して、PD-L1 陽性を示す MIC のうち、腫瘍細胞から 0.5 mm 以内にあるものは分子に含めます。このルールは、リンパ節内の腫瘍のうち、PD-L1 陽性の MIC を含む腫瘍にも適用することができます。CPS の分子に含める MIC の判定例については、図 24a ~ 24c を参照してください。

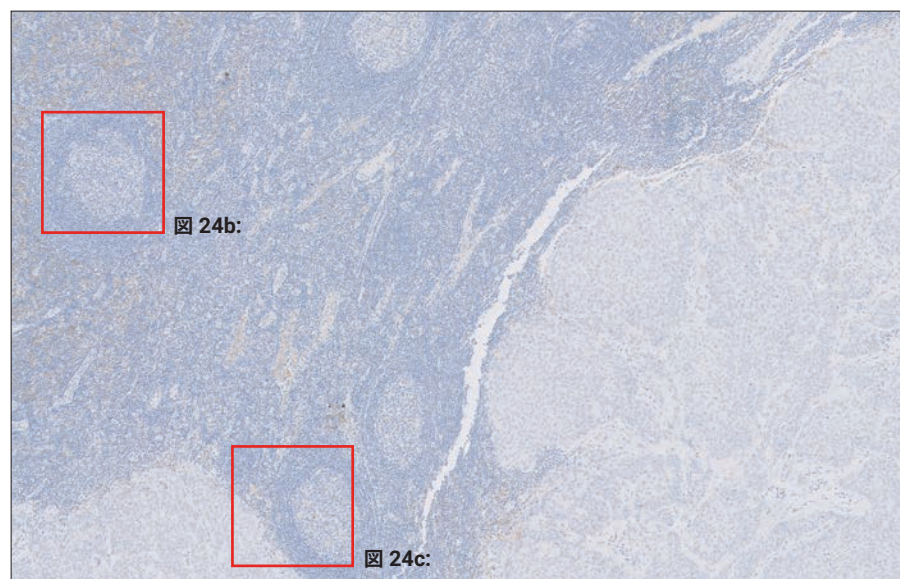


図 24a: 5 倍の対物レンズでは、PD-L1 陽性単核炎症細胞の複数の領域が目視可能です。分子に含める免疫細胞を判定するには、箱枠で囲った部分を 20 倍に拡大します (5 倍対物レンズ)。

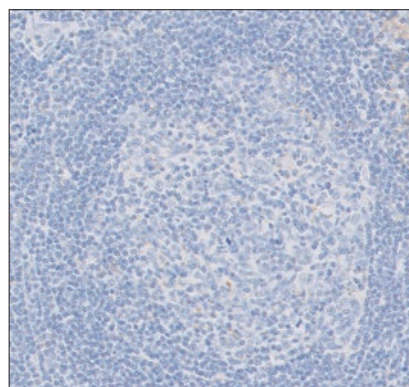


図 24b: PD-L1 陽性単核炎症細胞を含むこの 20 倍視野には腫瘍細胞がないため、これらの細胞はいずれも分子には含めません (対物レンズ 20 倍)。

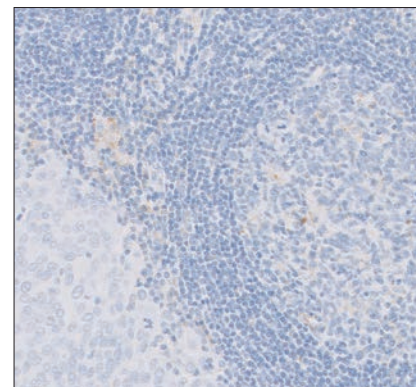


図 24c: 腫瘍細胞を 20 倍視野のほぼ中心に配置したとき、PD-L1 発現を示す単核炎症細胞のうち、同一視野内に存在するものを分子に含めます (対物レンズ 20 倍)。

腫瘍細胞密度パターン

HNSCC には、分母に含まれる総腫瘍細胞数を増加または減少させることにより、Combined Positive Score (CPS) に影響を与えるさまざまな形態が含まれます。明確に区別され、細胞質が豊富な腫瘍細胞のある扁平上皮細胞パターンでは、一般に 20 倍視野での細胞数は少ないですが、区別が不明確な類基底のパターンでは、一般に 20 倍視野での腫瘍細胞数は多くなります。分母に含まれる腫瘍細胞数が多くなると、全体スコアを $CPS \geq 1$ または $CPS \geq 20$ にあげるために必要な分子の PD-L1 発現腫瘍細胞、リンパ球、およびマクロファージの数が増えます。ガイドラインとして、20 倍視野を満たす腫瘍細胞に中程度に区別された腫瘍細胞パターンが認められる場合、その視野には平均約 2,500 個の細胞が存在します。

中密度パターン

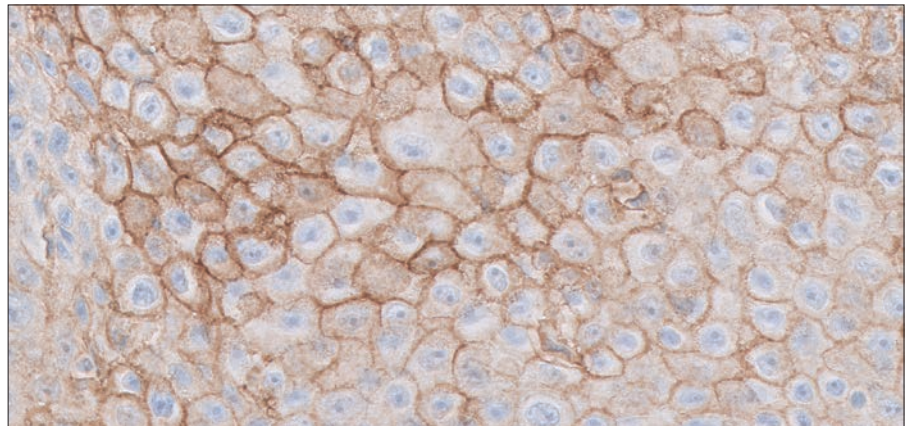


図 25: PD-L1 一次抗体で染色した HNSCC 検体 (対物レンズ 20 倍)。中程度に区別される腫瘍細胞パターンが認められます。

高密度パターン

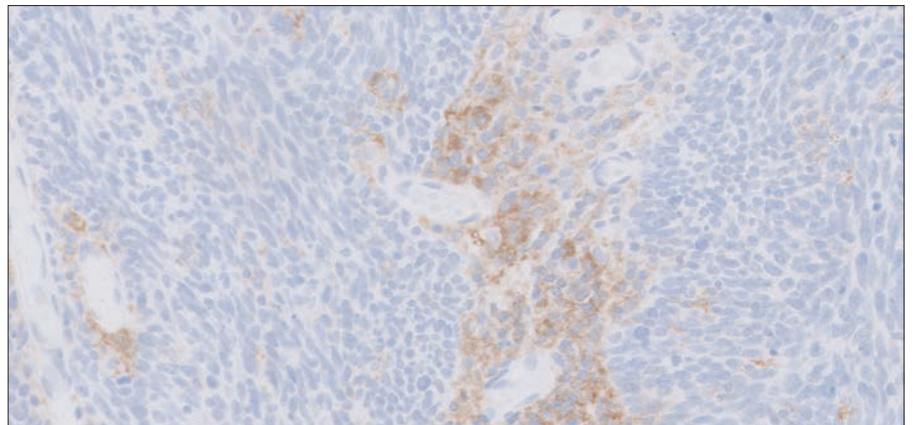


図 26: PD-L1 一次抗体で染色した HNSCC 検体 (対物レンズ 20 倍)。区別が不明確な、類基底のパターンが認められます。

低密度パターン

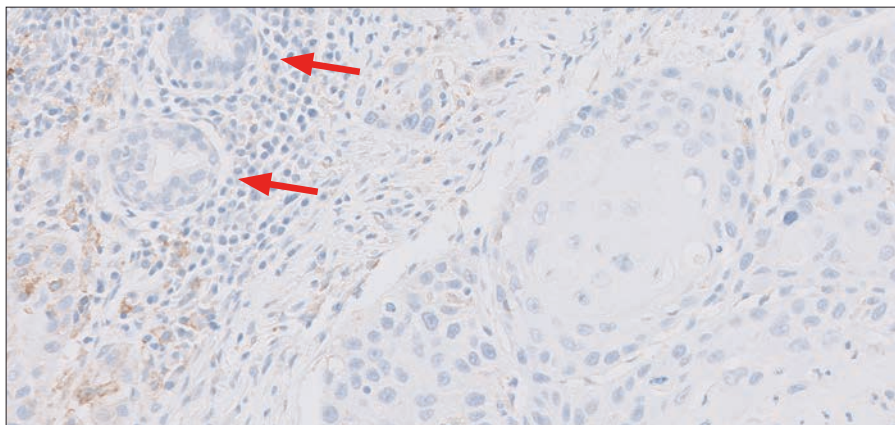


図 27: PD-L1 一次抗体で染色した HNSCC 検体。明確に区別される細胞質比率の高い腫瘍細胞パターンが認められます。スコアリングから除外される 2 つの唾液腺腺房 (矢印) に注意してください (対物レンズ 20 倍)。

重要なポイント

腫瘍細胞密度パターンによって、分母中の総腫瘍細胞数が増加または減少し、CPS に影響が生じます。

CPS から除外される細胞

PD-L1 細胞膜染色を示す腫瘍細胞および PD-L1 細胞膜染色または細胞質染色を示す MIC のみを CPS の分子に含めます。PD-L1 発現を示すものの、CPS 計算 (CPS の分子および分母) からは除外される他の細胞を以下に示します。

注意事項: 最も多く認められる除外要素を表す画像を以下に示します。そのため、除外対象の画像すべてがこのマニュアルに掲載されているわけではありません。全除外基準については、26 ページの表 1 および 2 を参照してください。

細胞質染色のみの腫瘍細胞

細胞質染色のみを示す腫瘍細胞は CPS の分子から除外します。ただし、CPS の分母には含めます。

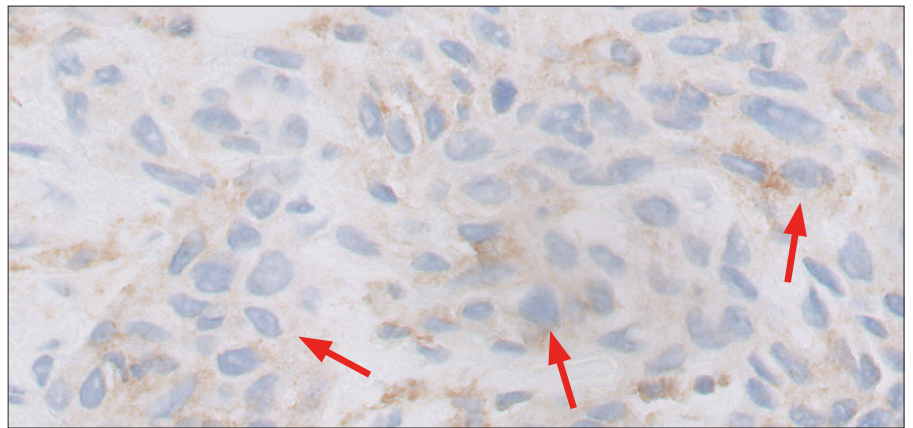


図 28: PD-L1 一次抗体で染色した HNSCC 検体 (矢印) (対物レンズ 20 倍)。細胞質染色のみが認められます。

重要なポイント

細胞質染色のみを示す腫瘍細胞は CPS の分子に含めません。

良性腺腫

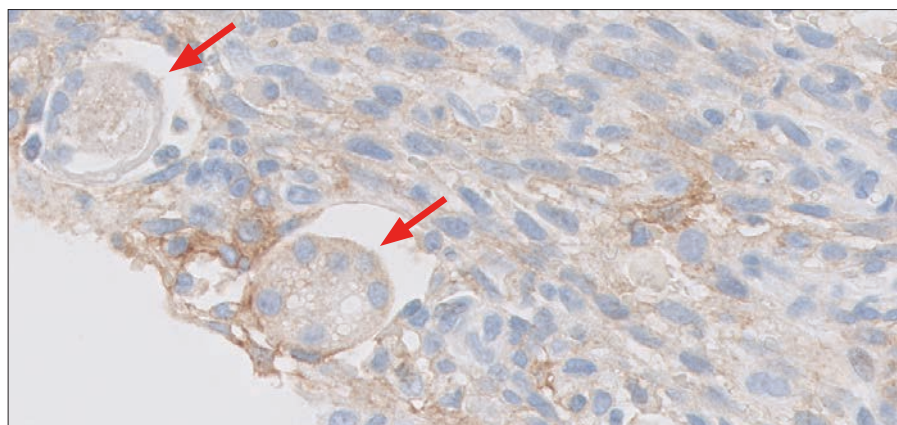


図 29: 唾液腺腺房 (矢印) (対物レンズ 20 倍)

重要なポイント

唾液腺腺房は PD-L1 発現を示すことがありますが、スコアリングからは除外します。

上皮内癌 (CIS)

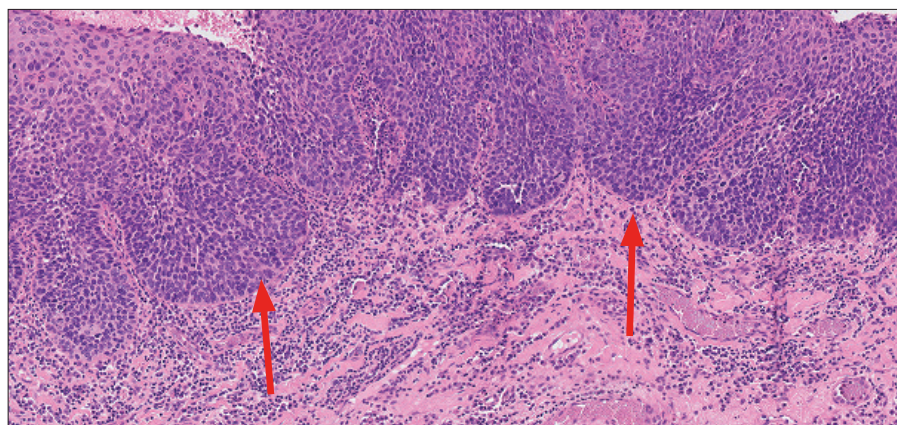


図 30a: 上皮内の HNSCC (CIS) を示す HE 切片 (矢印) (対物レンズ 5 倍)

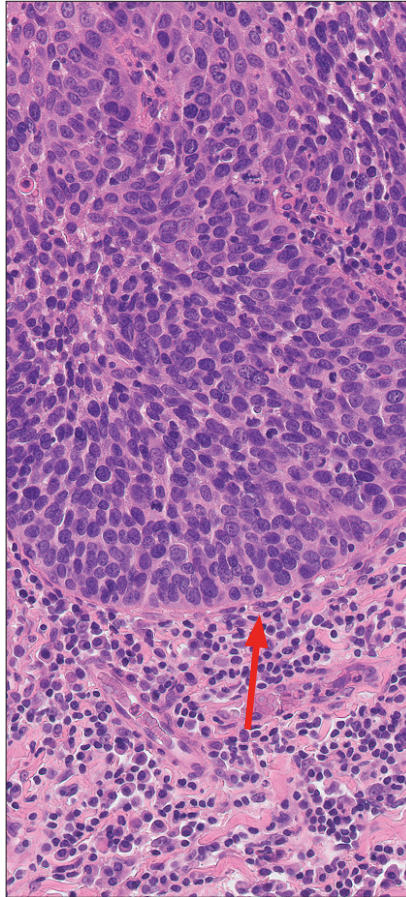


図 30b: 上皮内の HNSCC (CIS) を示す HE 切片 (矢印) (対物レンズ 10 倍)

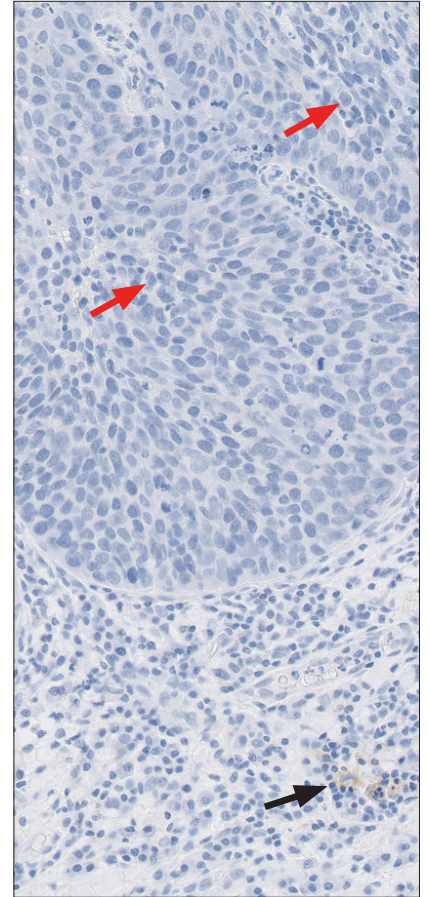


図 30c: 腫瘍細胞が CIS 構成の一部である場合は、分子および分母 (赤矢印) から除外します。CIS 構成に関連する単核炎症細胞 (MIC) (黒矢印) も分子から除外します (対物レンズ 10 倍)。

重要なポイント

腫瘍細胞や MIC が CIS 構成に関連している場合はスコアリングから除外します。

正常な扁桃組織

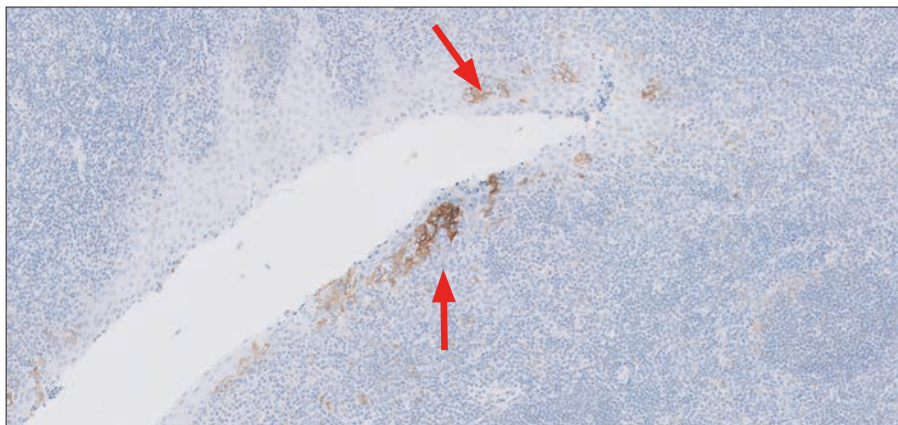


図 31: 陰窩上皮で PD-L1 陽性を示す正常な扁桃組織 (矢印) (対物レンズ 10 倍)

重要なポイント

正常な扁桃組織には陰窩上皮に PD-L1 陽性を示す細胞が含まれ、強い細胞異型を示す可能性があるため、癌細胞と間違えてはいけません。

間質細胞

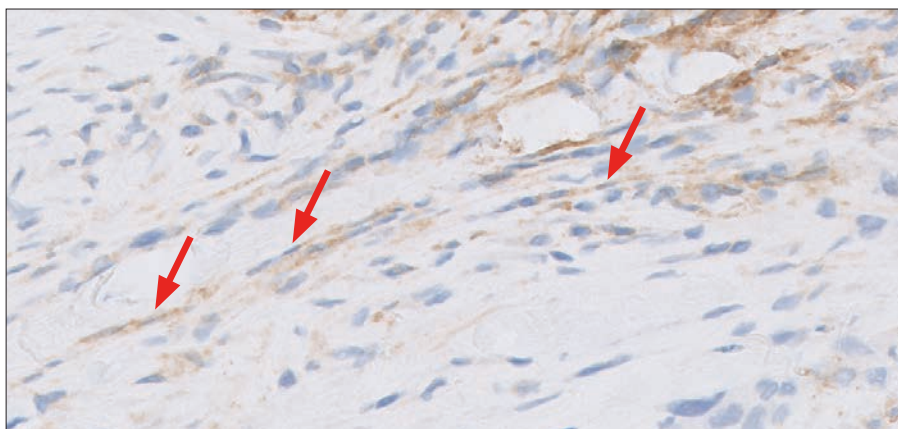


図 32: 間質細胞での PD-L1 陽性像 (矢印) (対物レンズ 20 倍)

重要なポイント

PD-L1 陽性を示す間質細胞はスコアリングから除外します。

CPS から除外されるその他の免疫細胞

さまざまな種類の免疫細胞が PD-L1 陽性を示す可能性がありますが、CPS 計算に含めるのは腫瘍関連リンパ球およびマクロファージのみです。免疫細胞の組み入れ/除外の 20 倍ルールに関しては、40 ページを参照してください。PD-L1 陽性を示す好中球、好酸球、および形質細胞はスコアリングから除外します。

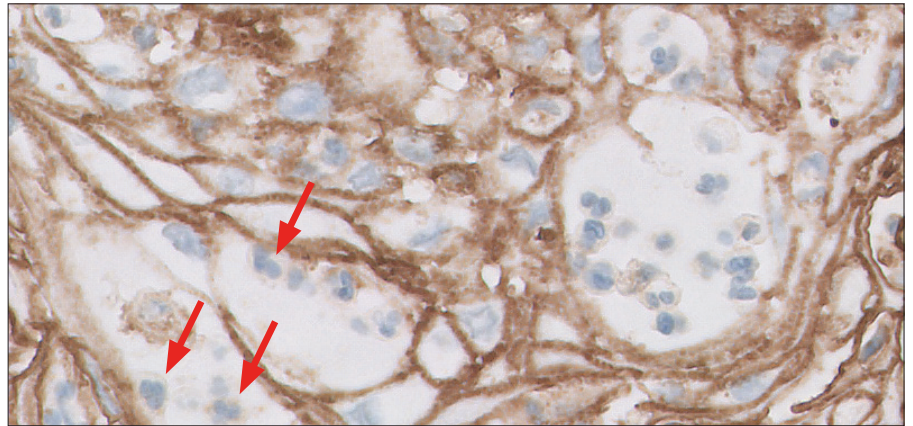


図 33a: PD-L1 陽性好中球 (矢印) (対物レンズ 20 倍)

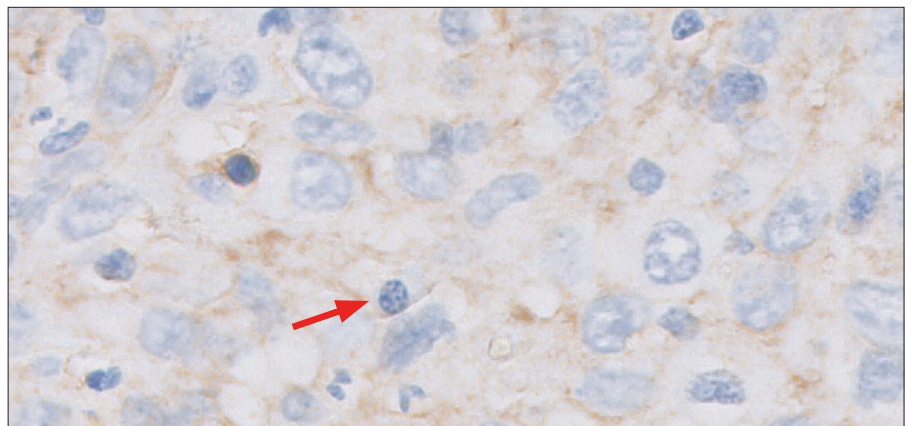


図 33b: PD-L1 陽性形質細胞 (矢印) (対物レンズ 20 倍)

重要なポイント

PD-L1 陽性の好中球、好酸球、および形質細胞はスコアリングから除外します。

アーチファクト

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」による染色の際に遭遇するアーチファクトを以降のページに示します。

非特異的バックグラウンド染色

バックグラウンド染色とは、組織検体の広範囲にみられる非特異的染色と定義されます。これには、さまざまな要因が関与します。このような要因には以下が含まれますが、これだけに限定されません。

- － 固定と検体の処理
- － 切片からの不十分なパラフィン除去
- － 染色中の不十分なスライド洗浄
- － スライドの乾燥。Autostainer Link 48 にスライドを乗せる時、また、機器稼動前に、スライドが洗浄液で湿潤状態であることを確認してください。
- － 脱パラフィン不良
- － スライドの洗浄不良

NCR 染色した検体の非特異的バックグラウンド染色状態と、PD-L1 抗体で染色した検体上のバックグラウンド染色状態を照らし合わせることで、その程度を把握することができます。すべての組織検体において、非特異的バックグラウンド染色は $\leq 1+$ である必要があります。

10 % 中性緩衝ホルマリン以外の固定液の使用もバックグラウンド染色の原因となることがあるため推奨しません。PD-L1 IHC 22C3 pharmDx 「ダコ」によるバックグラウンド染色は稀です。

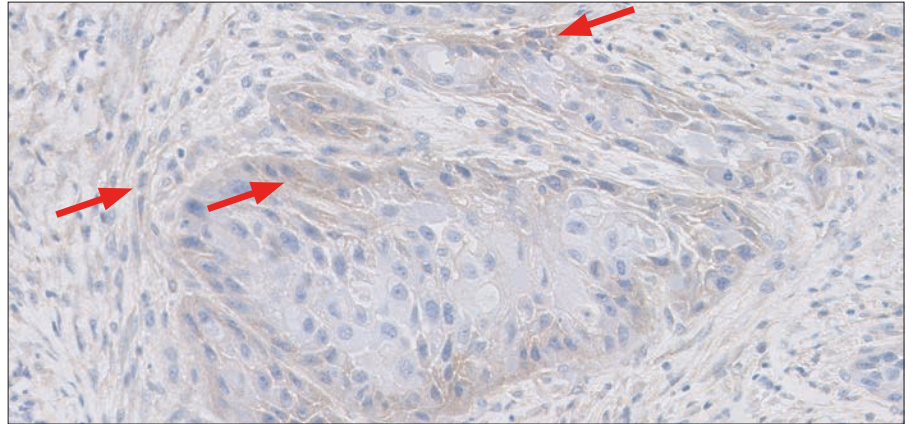


図 34a: PD-L1 一次抗体で染色された、非特異的バックグラウンド染色を示す HNSCC 検体。
非特異的バックグラウンド染色を示す細胞 (矢印) はスコアリングから除外します (対物レンズ 20 倍)。

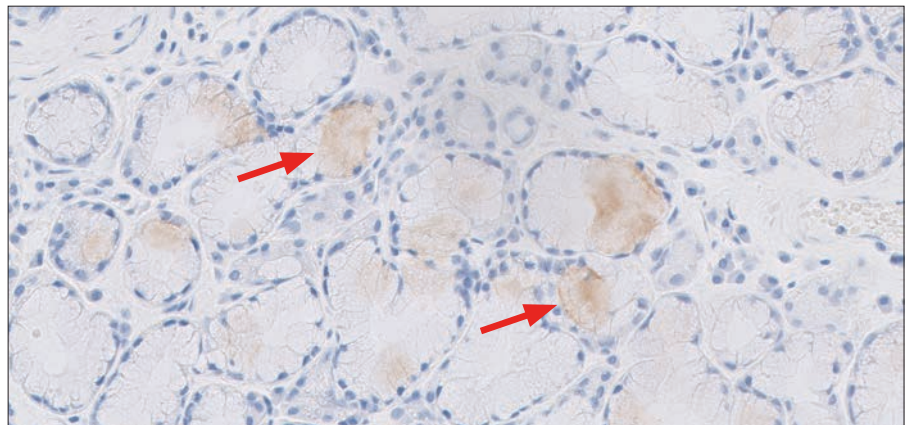


図 34b: PD-L1 一次抗体で染色された、非特異的 DAB 染色を示す HNSCC 検体。
非特異的 DAB 染色を示す細胞 (矢印) はスコアリングから除外します (対物レンズ 20 倍)。

重要なポイント

すべての組織検体において、非特異的バックグラウンド染色は $\leq 1+$ である必要があります。

エッジアーチファクト

一般的に、エッジアーチファクトは、次の前処理工程の因子に関係します。

- 厚い組織切片
- 固定前あるいは染色工程中の組織の乾燥

いずれの因子も、結果として切片の周縁部の反応が強調され、中心部がごくわずかな陽性あるいは陰性となることがあります。この場合、組織切片の縁にのみ陽性反応が認められるものは、スコアリングから除外します。

注意事項: エッジアーチファクトが存在することがありますが、他の IHC 染色ほど一般には見られません。

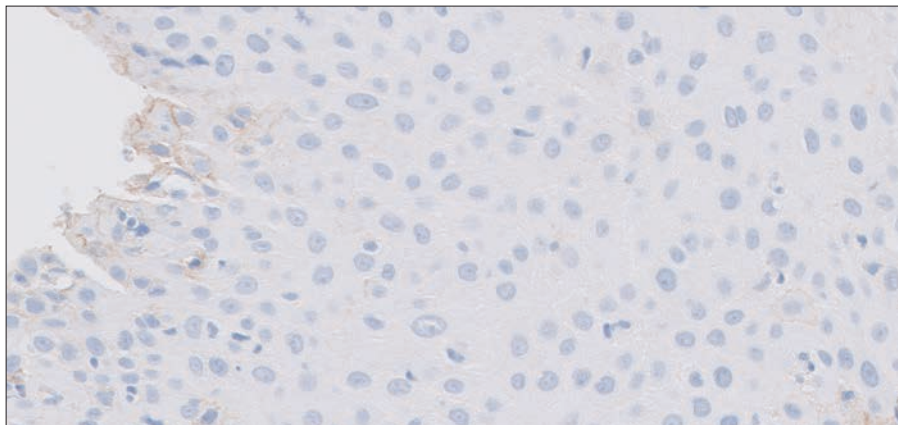


図 35: エッジアーチファクトはスコアリング (対物レンズ 20 倍) から除外します。

注意事項: 子宮頸部の扁平上皮細胞癌が示されています。

重要なポイント

これらの要因により残りの組織検体部分が染まりムラ (不均一性) を呈していると考えられる場合には、周辺部のスコアリングは避けてください。

クラッシュアーチファクト

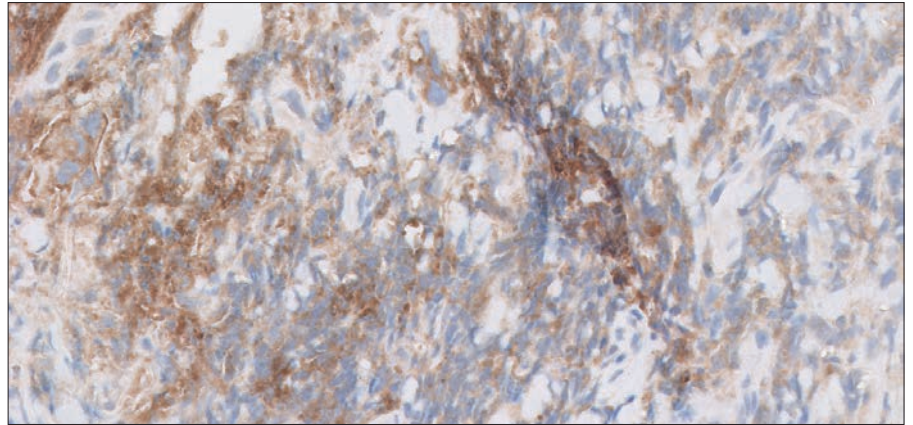


図 36: PD-L1 一次抗体で染色された、クラッシュアーチファクトを示す HNSCC 検体。
クラッシュアーチファクトはスコアリングから除外します (20 倍拡大)。

検体採取の際に、強い力が加わったことにより、組織が挫滅し、形態学的に組織構造に歪みを生じます。挫滅した細胞は、強い非特異染色を示すことがあるためスコアリングから除外します。

重要なポイント

クラッシュアーチファクト部位でのスコアリングは避けてください。

壊死

壊死は細胞死を示す形態学的変化ですが、その詳細は明確に定義されていません。PD-L1 抗体で染色された壊死領域は HNSCC 検体に高頻度に認められますが、スコアリングから除外します。

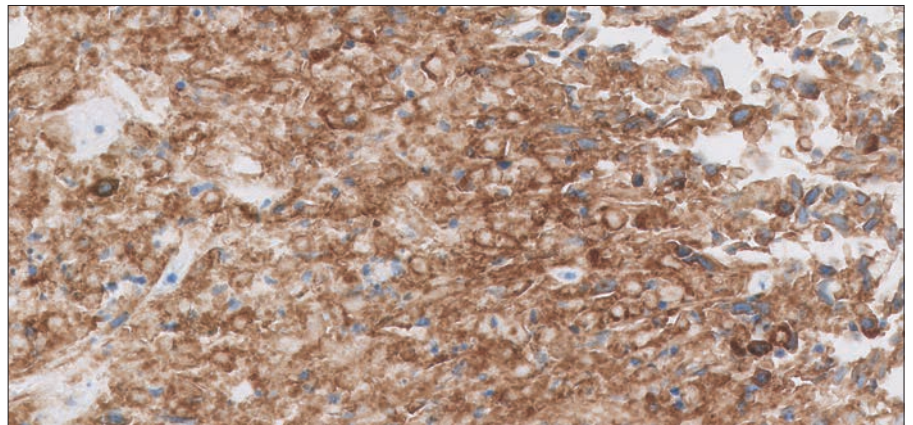


図 37: PD-L1 一次抗体で染色した、壊死領域に反応が見られる HNSCC 検体。壊死部の反応はスコアリングから除外します (対物レンズ 20 倍)。

重要なポイント

壊死領域は CPS の計算から除外します。

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」の CPS の症例

CPS < 1 の症例

症例 1: CPS 0

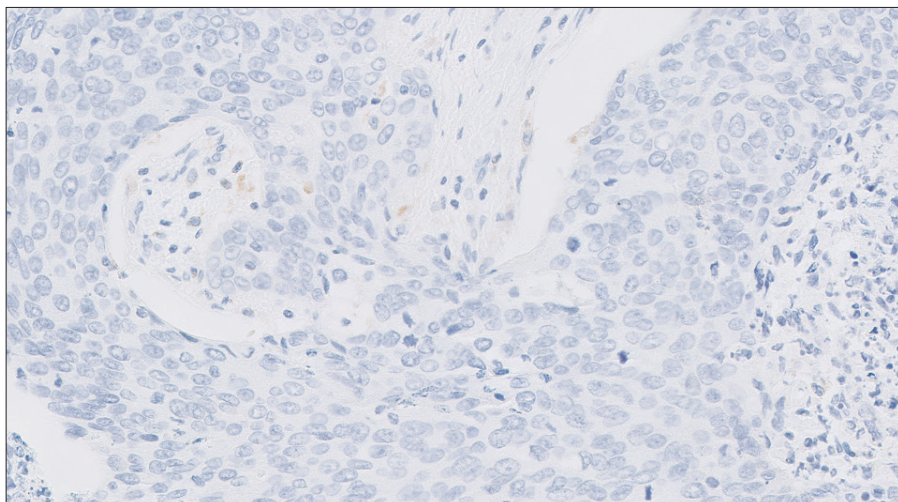


図 38: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 0 を示す HNSCC 検体 (対物レンズ 20 倍)

症例 2: CPS 0

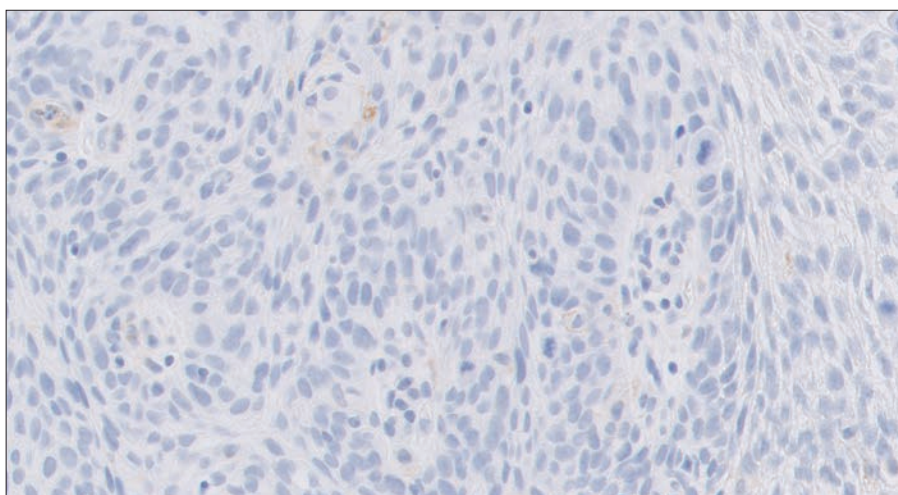


図 39: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 0 を示す HNSCC 検体 (対物レンズ 20 倍)

CPS 1 カットオフ付近の症例
($0 < \text{CPS} \leq 10$)

判定が困難な症例 1: CPS 1 カットオフ付近 ($0 < \text{CPS} \leq 10$)

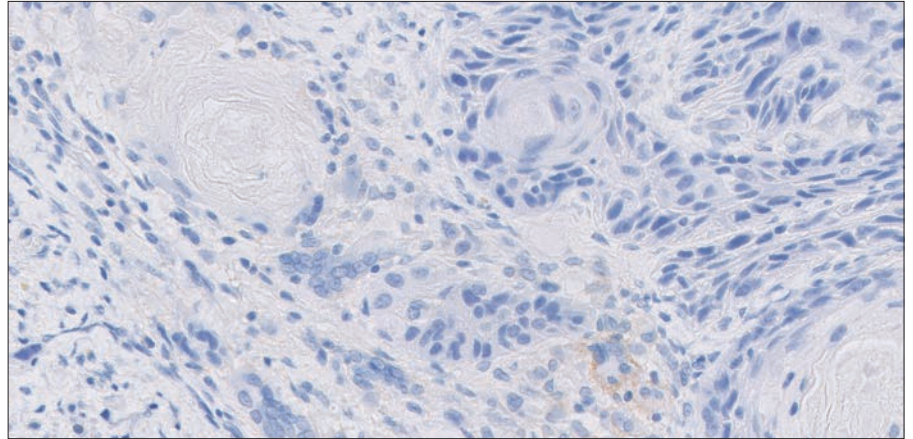


図 40: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 1 を示す HNSCC 検体。ただし、この画像には CPS 1 ～ 2 が割り当てられる可能性があります (対物レンズ 20 倍)。

判定が困難な症例 2: CPS 1 カットオフ付近 ($0 < \text{CPS} \leq 10$)

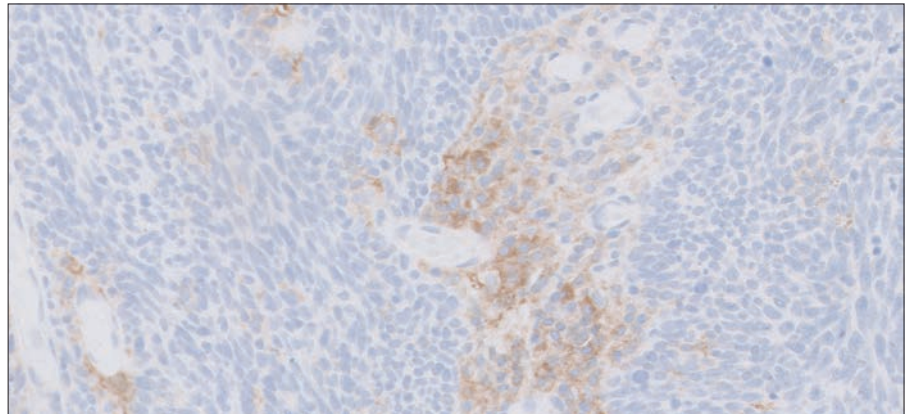


図 41: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 2 を示す HNSCC 検体。ただし、この画像では CPS 1 ～ 3 の範囲であれば許容可能です (対物レンズ20 倍)。

判定が困難な症例 3: CPS 1 カットオフ付近 ($0 < \text{CPS} \leq 10$)

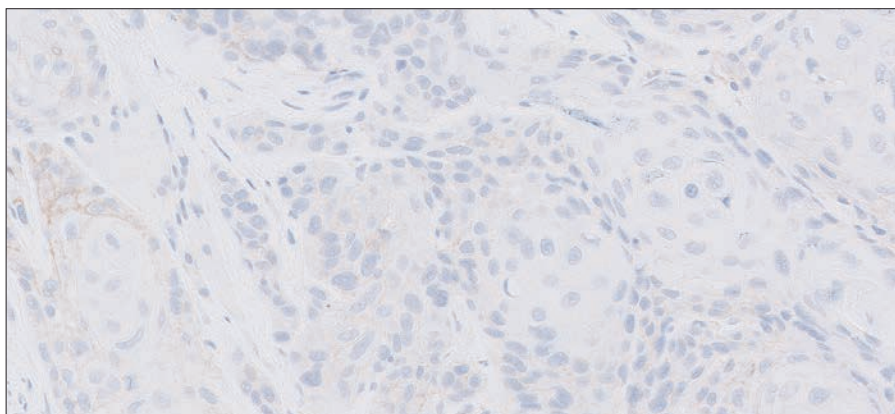


図 42: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 7 を示す HNSCC 検体。ただし、この画像には CPS 5 ～ 9 が割り当てられる可能性があります (対物レンズ 20 倍)。

判定が困難な症例 4: CPS 1 カットオフ付近 ($0 < \text{CPS} \leq 10$)

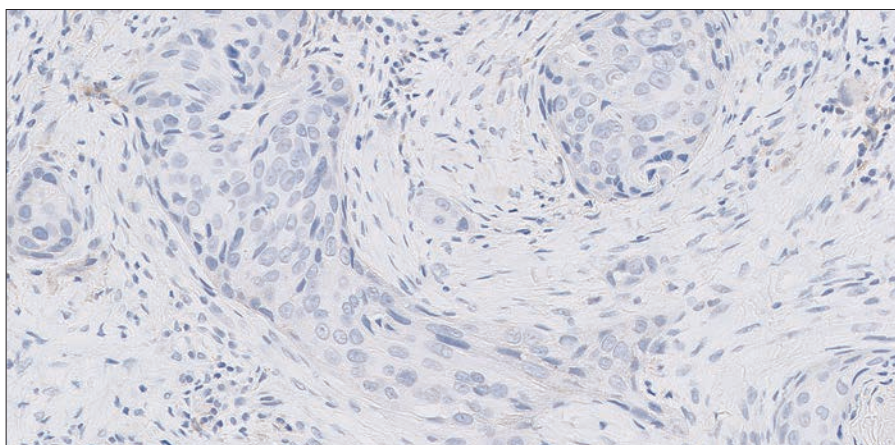


図 43: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 5 を示す HNSCC 検体。ただし、この画像には CPS 3 ～ 7 が割り当てられる可能性があります (対物レンズ 20 倍)。

判定が困難な症例 5: CPS 1 カットオフ付近 ($0 < \text{CPS} \leq 10$)

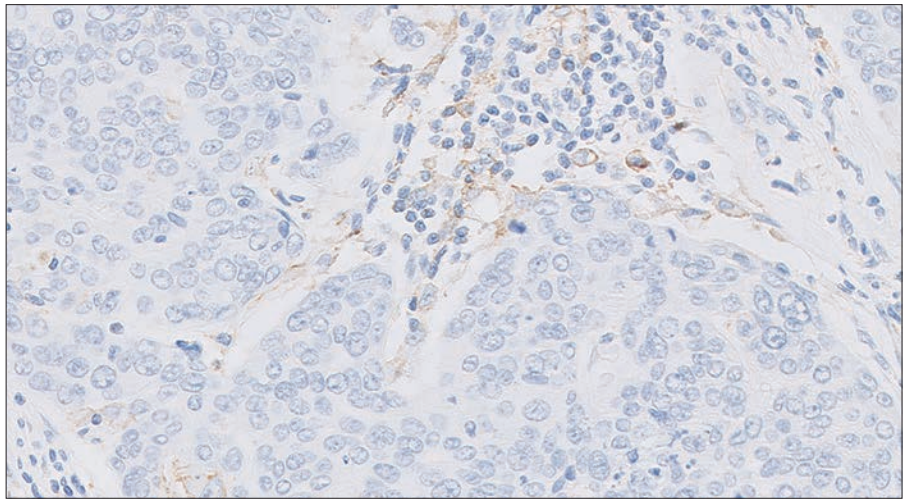


図 44: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 8 を示す HNSCC 検体。ただし、この画像には CPS 6 ～ 10 が割り当てられる可能性があります (対物レンズ 20 倍)。

判定が困難な症例 6: CPS 1 カットオフ付近 ($0 < \text{CPS} \leq 10$)

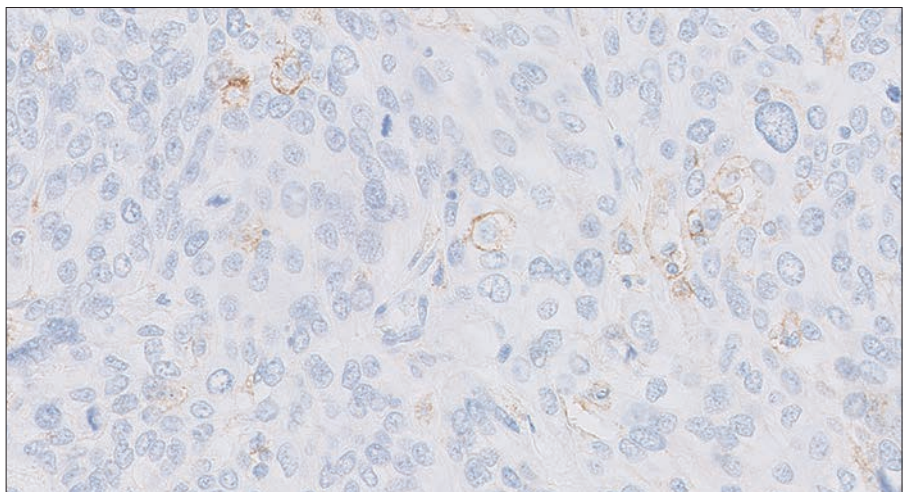


図 45: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 6 を示す HNSCC 検体。ただし、この画像には CPS 4 ～ 8 が割り当てられる可能性があります (対物レンズ 20 倍)。

判定が困難な症例 7: CPS 1 カットオフ付近 ($0 < \text{CPS} \leq 10$)

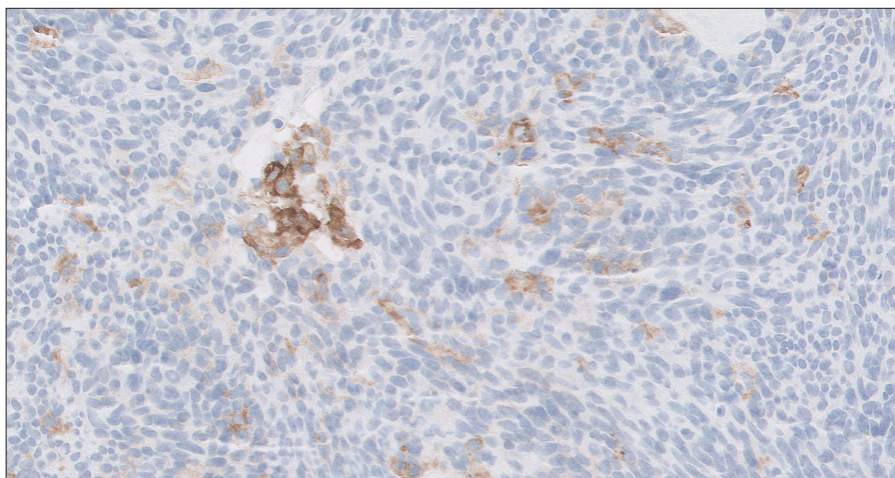


図 46: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 4 を示す HNSCC 検体。ただし、この画像には CPS 2 ～ 6 が割り当てられる可能性があります (対物レンズ 20 倍)。

判定が困難な症例 8: CPS 1 カットオフ付近 ($0 < \text{CPS} \leq 10$)

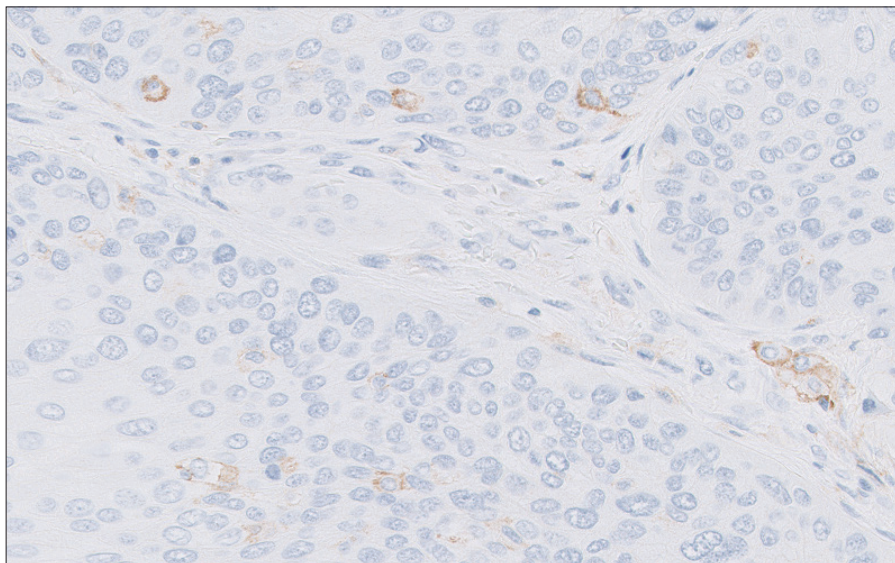


図 47: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 4 を示す HNSCC 検体。ただし、この画像には CPS 2 ～ 6 が割り当てられる可能性があります (対物レンズ 20 倍)。

判定が困難な症例 9: CPS 1 カットオフ付近 ($0 < \text{CPS} \leq 10$)

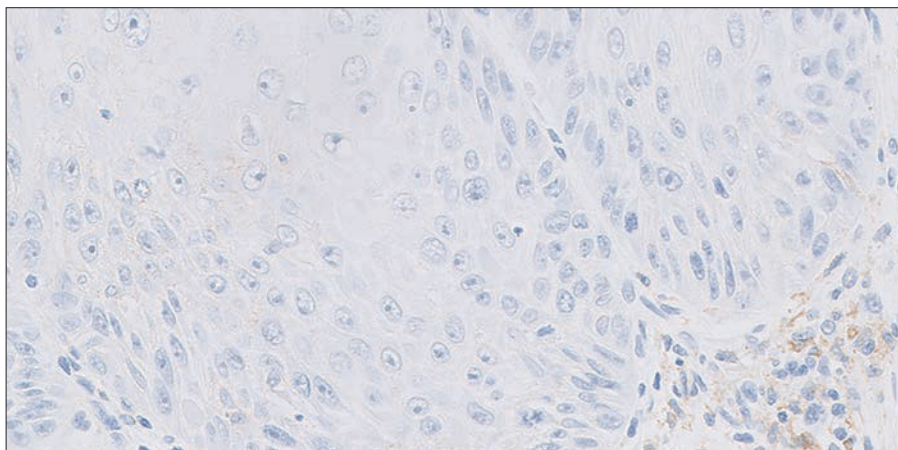


図 48: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 6 を示す HNSCC 検体。ただし、この画像には CPS 4 ～ 8 が割り当てられる可能性があります (対物レンズ 20 倍)。

CPS 20 カットオフ付近の症例
($10 < \text{CPS} \leq 30$)

判定が困難な症例 10: CPS 20 カットオフ付近 ($10 < \text{CPS} \leq 30$)

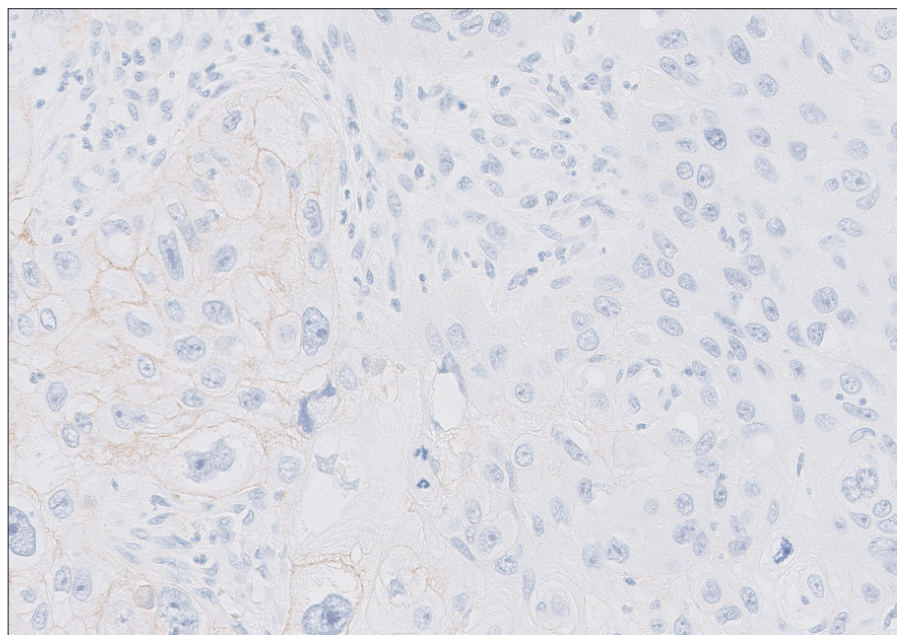


図 49: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 22 を示す HNSCC 検体。ただし、この画像には CPS 20 ～ 25 が割り当てられる可能性があります (対物レンズ 20 倍)。

判定が困難な症例 11: CPS 20 カットオフ付近 ($10 < \text{CPS} \leq 30$)

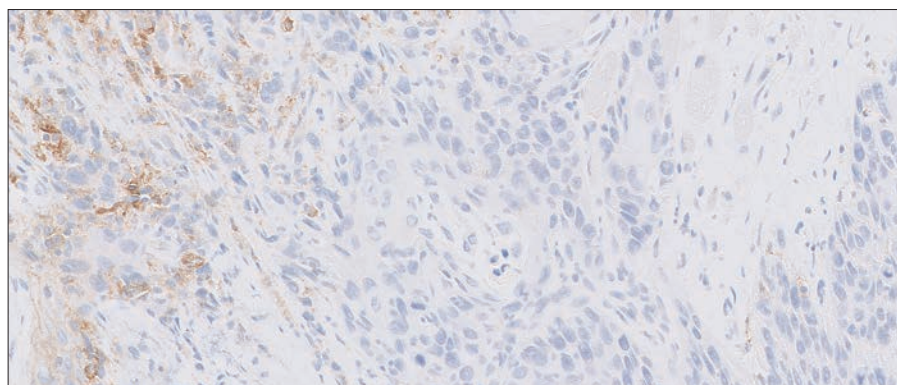


図 50: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 25 を示す HNSCC 検体。ただし、この画像には CPS 20 ～ 30 が割り当てられる可能性があります (対物レンズ 20 倍)。

判定が困難な症例 12: CPS 20 カットオフ付近 ($10 < \text{CPS} \leq 30$)

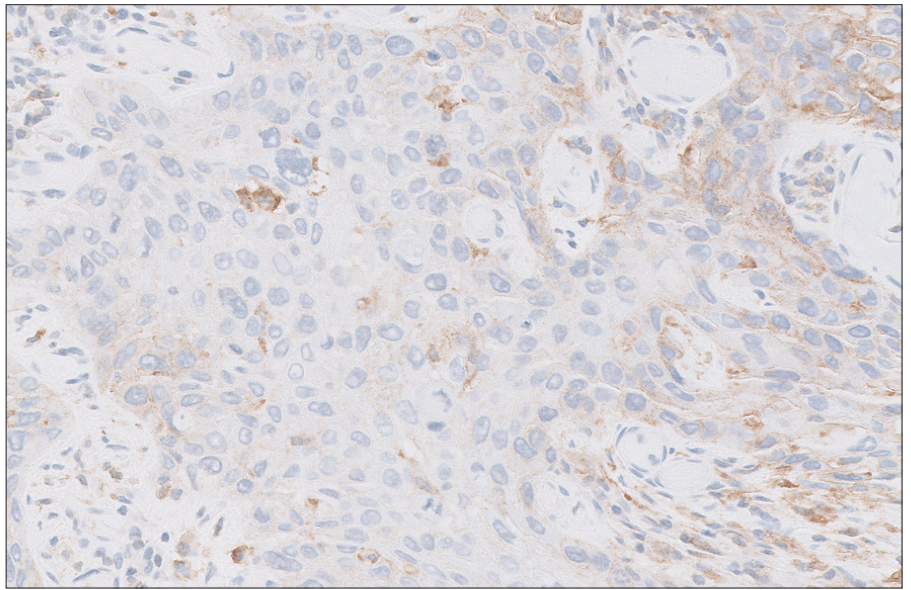


図 51: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 25 を示す HNSCC 検体。ただし、この画像には CPS 20 ～ 30 が割り当てられる可能性があります。視野の左上角の PD-L1 陽性の形質細胞は、スコアリングから除外します (対物レンズ 20 倍)。

判定が困難な症例 13: CPS 20 カットオフ付近 ($10 < \text{CPS} \leq 30$)

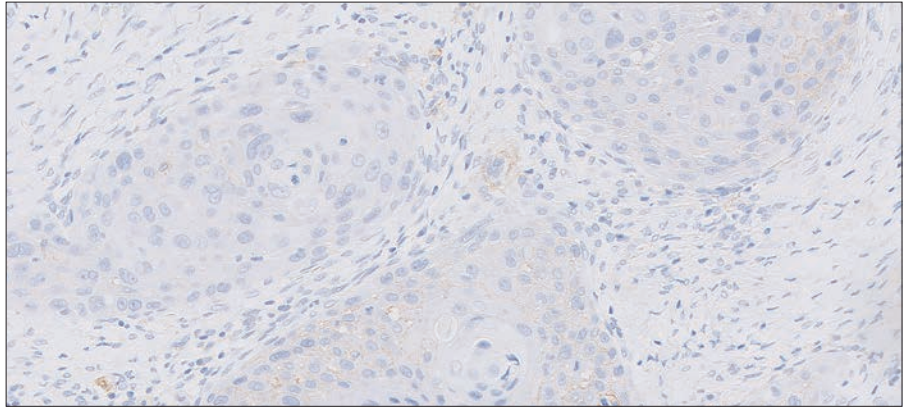


図 52: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 22 を示す HNSCC 検体。ただし、この画像には CPS 20 ～ 25 が割り当てられる可能性があります (対物レンズ 20 倍)。

CPS ≥ 20 の症例

症例 3: CPS ≥ 20

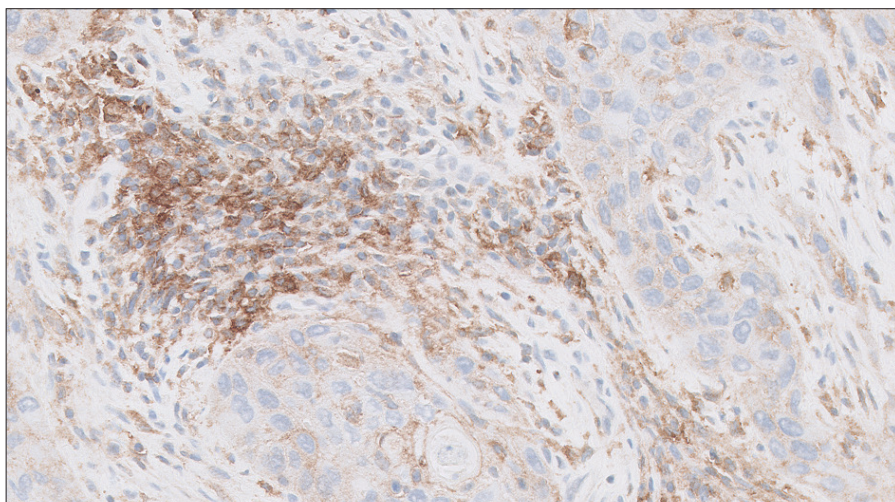


図 53: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 100 を示す HNSCC 検体 (対物レンズ 20 倍)

症例 4: CPS ≥ 20

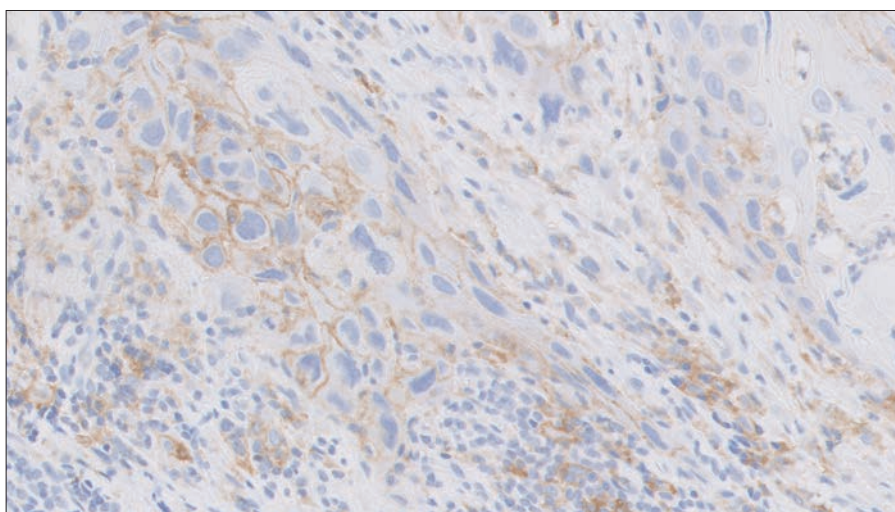


図 54: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 100 を示す HNSCC 検体 (対物レンズ 20 倍)

症例 5: CPS ≥ 20

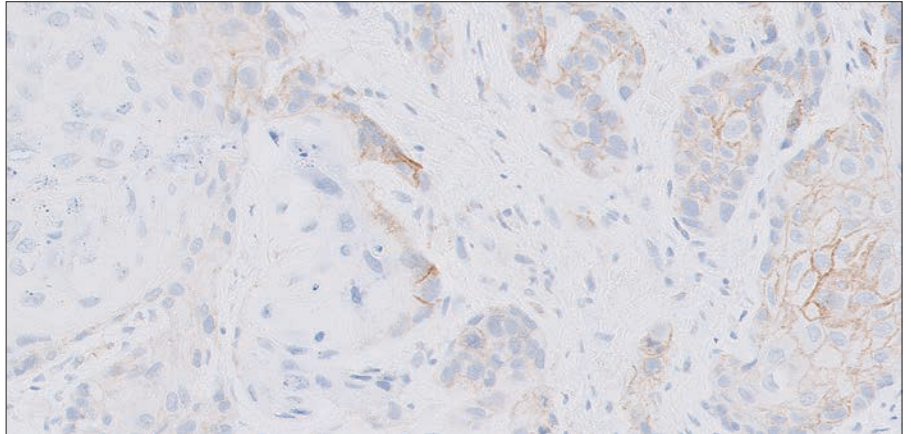


図 55: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 50 を示す HNSCC 検体。ただし、この画像には CPS 45 ～ 55 が割り当てられる可能性があります (対物レンズ 20 倍)。

症例 6: CPS ≥ 20

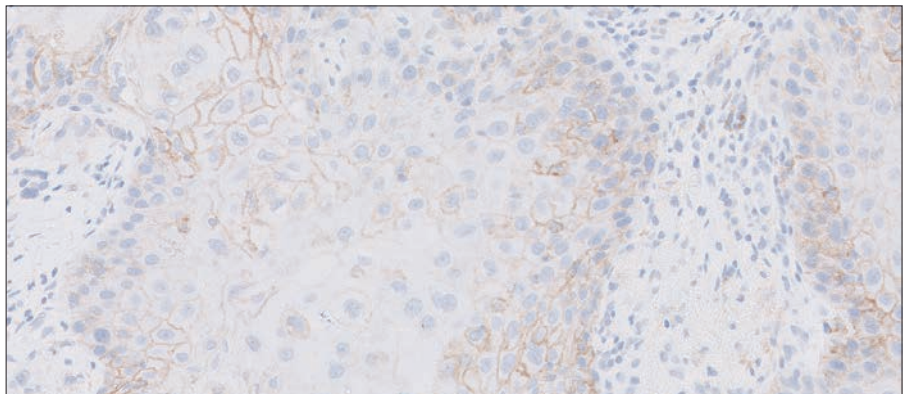


図 56: PD-L1 一次抗体で染色した、CPS 55 を示す HNSCC 検体。ただし、この画像には CPS 50 ～ 60 が割り当てられる可能性があります (対物レンズ 20 倍)。

トラブルシューティングガイド

PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」 のトラブルシューティングガイド

詳細なトラブルシューティングが必要な場合には、テクニカルサポート担当者またはカスタマーサポートまでご連絡ください。

問題	考えられる原因	推奨される処置
染色されていない	プログラミングエラー	スライドオーダーに際し、PD-L1 IHC 22C3pharmDx「ダコ」プロトコルが選択されていることを確認
	DAB の発色不足	基質発色液が適切に調製されていることを確認
	洗浄液中のアジ化ナトリウム	ダコ Envision FLEX 洗浄液 (20 x)、コード K8007 のみを使用すること
	本品中のコントロールスライドの劣化	外装に印刷されているキットの使用期限と保存条件を確認
染色が弱い	不適切な固定法の使用	必ず中性緩衝ホルマリン固定液と認可された固定方法を使用してください。
	滴下した試薬の量が不十分	組織切片の大きさと滴下した試薬の量を確認してください。
	不適切な洗浄液の使用	ダコ Envision FLEX 洗浄液 (20 x)、コード K8007 のみを使用すること
本品中のコントロールスライドあるいは検体スライドの染色が弱い	不適切な抗原賦活液の調整	3-in-1 処理が正しく行われたことを確認
	不適切な洗浄液の使用	ダコ Envision FLEX 洗浄液 (20 x)、コード K8007 のみを使用すること
過度のバックグラウンド染色を認める	脱パラフィン不良	3-in-1 処理が正しく行われたことを確認
	機器搭載時など染色前にスライドが乾燥した	染色前のいずれの段階においてもスライドが緩衝液で湿潤状態であることを確認
	試薬と組織切片の非特異的吸着	検体が適切に固定されていることや、壊死の有無を確認
	不適切な固定法の使用	必ず中性緩衝ホルマリン固定液と推奨される固定方法を使用してください。
スライドから組織が剥がれる	不適切なスライドガラスの使用	適切なコーティング済みスライドを使用
	検体作製が不適切	切片は、染色前に 58 ± 2 °C で 1 時間ベーキングすること
染色性が強すぎる	不適切な固定法の使用	検証された固定液と固定方法のみを使用していることを確認
	不適切な洗浄液の使用	ダコ Envision FLEX 洗浄液 (20 x)、コード K8007 のみを使用すること
抗原賦活液が濁る	加熱時、抗原賦活液が濁る	これは正常であり、染色には影響しない

注意事項: 問題が上記以外の原因によるものである場合、あるいは推奨される是正措置をとっても問題が解決しない場合、アジレントのテクニカルサポートまでお問い合わせください。染色技術や検体作製についての詳細な情報は、ダコの教育ガイドに記載されています。免疫組織化学染色法 (アジレントから入手できます)。

臨床性能評価

キイトルーダの有効性は、KEYNOTE -048 (NCT02358031) 試験、すなわち、転移性または再発性の HNSCC 患者で、再発性疾患または転移性疾患のための全身療法を受けたことがないか、または局所療法では不治と考えられる患者を対象とした、多施設共同、無作為化、非盲検、実薬対照臨床試験で評価されました。2 年間の投与期間中に全身治療が必要な活動性自己免疫疾患患者、または免疫抑制が必要な病状の患者はこの試験に不適格としました。無作為化割付は 腫瘍 PD-L1 発現 (TPS \geq 50 % または < 50 %)、HPV ステータス (陽性または陰性)、および ECOG PS (0 対 1) によって層別化しました。患者は 1:1:1 の比率で以下の投与群の 1 つに無作為に割り付けました。

- キイトルーダ 200 mg を 3 週間ごとに投与
- キイトルーダ 200 mg を 3 週間ごと、カルボプラチン AUC 5 mg/mL/min を 3 週間ごとまたはシスプラチン 100 mg/m² を 3 週間ごと、および 5-FU 1000 mg/m²/day を 3 週間ごとに 4 日間連続で 投与 (プラチナ製剤および 5-FU を最高 6 サイクル)
- セツキシマブ 400 mg/m² の投与後、250 mg/m² を週 1 回、カルボプラチン AUC 5 mg/mL/min を 3 週間ごとまたはシスプラチン 100 mg/m² を 3 週間ごと、および 5-FU 1000 mg/m²/day を 3 週間ごとに 4日間連続で 投与 (プラチナ製剤および 5-FU を最高 6 サイクル)

キイトルーダの投与は、RECIST v1.1 (標的病変数最大 10 個および 1 臓器あたり標的病変数最大 5 個を追跡できるように修正済み) に定義される病勢進行まで (治験責任医師の判断による)、PD または許容できない有害事象等が発現するまで、または最高 24 か月間継続しました。患者が臨床的に安定しており、治験責任医師により臨床の有用性がもたらされていると判断された場合には、RECIST に定義された病勢進行を越えてキイトルーダの投与が許可されました。腫瘍ステータスの評価は week 9 で実施された後、1 年目は 6 週間ごと、その後の 24 か月間は 9 週間ごとに行われました。

主要有効性評価項目は OS および PFS でした (標的病変数最大 10 個および 1 臓器あたり標的病変数最大 5 個を追跡できるように修正済みの RECIST v1.1 に基づく BICR によって評価)。追加の有効性評価項目として ORR および奏効期間を用い、標的病変数最大 10 個および 1 臓器あたり標的病変数最大 5 個を追跡できるように修正済みの RECIST v1.1 に基づく BICR によって評価しました。

合計 601 名の患者がキイトルーダ単独療法群および標準療法群に無作為に割り付けられました。内訳はキイトルーダ単独療法群が 301 名、標準療法群が 300 名でした。被験者集団の特性は次のとおりでした。年齢中央値 61 歳 (範囲: 22-94 歳)、65 歳以上 36 %、男性 85 %、白人 74 % およびアジア系 19 %、ECOG PS 1 は 61 %、および喫煙歴有/現喫煙者 79 %。患者の特性を以下に示します。22 % が HPV 陽性であり、PD-L1 発現率が CPS \geq 1、CPS \geq 20、および TPS \geq 50 % と定義される患者はそれぞれ 85 %、42 %、および 22 %、ステージ IV の疾患 (ステージ IVa 20 %、ステージ IVb 6 % およびステージ IVc 70 %) を呈する患者は 96 % でした。

キイトルーダ単独療法に無作為化割付された患者の OS は標準治療と比較して非劣性でした。表 5 および図 57 に、KEYNOTE-048 におけるキイトルーダ単独療法の主な有効性の結果を記載します。

表 5: KEYNOTE-048 におけるキイトルーダ単独療法の有効性の結果

評価項目	キイトルーダ n=301	標準治療* n=300
OS (全生存)		
事象が発現した患者数 (%)	213 (71 %)	240 (80 %)
中央値 (月) (95 % CI)	11.6 (10.5, 13.6)	10.7 (9.3, 11.7)
ハザード比 [†] (95 %CI)	0.85 (0.71, 1.03)	
p 値 [‡]	0.00028	
PFS (無増悪生存)		
事象が発現した患者数 (%)	270 (90 %)	270 (90 %)
中央値 (月) (95 % CI)	2.3 (2.2, 3.3)	5.2 (4.9, 6.0)
ハザード比 [†] (95 %CI)	1.34 (1.13, 1.59)	
p 値 [§]	0.0010	
ORR		
客観的奏効率 [¶] (95 %CI)	17 % (12.9, 21.7)	36 % (30.6, 41.7)
完全奏効	5 %	3 %
部分奏効	12 %	33 %
p 値 [#]	<0.0001	
奏効期間		
中央値 (月) (範囲)	20.9 (1.5+, 34.8+)	4.5 (1.2+, 30.6+)
奏効期間が 6 か月間以上の場合の割合 (%)	76 %	39 %

* セツキシマブ、プラチナ製剤、および 5-FU

[†] 層別 Cox 比例ハザードモデルに基づく

[‡] 非劣性 p 値

[§] 層別ログランク検定に基づく

[¶] 奏効: 完全奏効または部分奏効と確認される最良客観的奏効

[#] ECOG PS (0 vs 1)、HPV ステータス (陽性 vs 陰性)、および PD-L1 発現レベル (高発現 vs 低発現) で層別化された
Miettinen-Nurminen 法に基づく

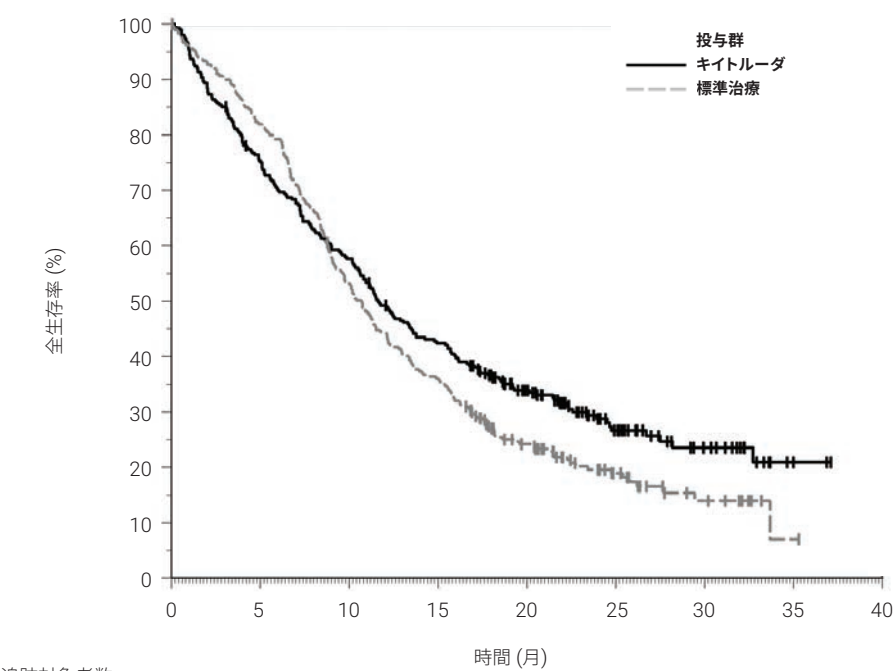


図 57: KEYNOTE-048 におけるキイトルーダ単独療法群の全生存率のカプランマイヤー曲線。

KEYNOTE-048 では、PD-L1 発現 (CPS ≥ 1 および CPS ≥ 20) に基づく追加の OS 解析を、PD-L1 IHC 22C3 pharmDx「ダコ」を用いて行いました。当該試験では、キイトルーダ単独療法に無作為化された CPS ≥ 1 および CPS ≥ 20 の PD-L1 発現を示す患者の OS が、標準治療の場合と比較して統計学的に有意に改善されたことが示されました。CPS ≥ 1 および CPS ≥ 20 の PD-L1 発現を示す患者の OS について、キイトルーダ単独療法と標準治療の比較を表 6 に要約します。

表 6: PD-L1 発現率別の OS

	CPS ≥ 1		CPS ≥ 20	
	キイトルーダ n=257	標準治療* n=255	キイトルーダ n=133	標準治療* n=122
事象数 (%)	177 (69 %)	206 (81 %)	82 (62 %)	95 (78 %)
中央値 (月) (95 % CI)	12.3 (10.8, 14.9)	10.3 (9.0, 11.5)	14.9 (11.6, 21.5)	10.7 (8.8, 12.8)
ハザード比† (95 %CI)	0.78 (0.64, 0.96)		0.61 (0.45, 0.83)	
p 値‡	0.0171		0.0015	

* セツキシマブ、プラチナ製剤、および 5-FU

† 層別 Cox 比例ハザードモデルに基づくハザード比 (標準治療との比較)

‡ 層別ログランク検定に基づく

参考文献

- Keytruda [package insert]. Kenilworth, NJ: Merck & Co., Inc.; 2019.
- PD-L1 IHC 22C3 pharmDx [package insert]. Carpinteria, CA: Dako, Agilent Pathology Solutions; 2019.
- Herbst, R.S.; Soria, J.C.; Kowanetz, M.; Fine, G.D.; Hamid, O.; Gordon, M.S.; Sosman, J.A.; McDermott, D.F.; Powderly, J.D.; Gettinger, S.N.; Kohrt, H.E.; Horn, L.; Lawrence, D.P.; Rost, S.; Leabman, M.; Xiao, Y.; Mok, A.; Koeppen, H.; Hegde, P.S.; Mellman, I.; Chen, D.S.; Hodi, F.S. Predictive Correlates of Response to the Anti-PD-L1 Antibody MPDL3280A in Cancer Patients. *Nature*. **2014**, 515 (7528), 563–567.
- Tume, P.C.; Harview, C.L.; Yearley, J.H.; Shintaku, I.P.; Taylor, E.J.; Robert, L.; Chmielowski, B.; Spasic, M.; Henry, G.; Ciobanu, V.; West, A.N.; Carmona, M.; Kivork, C.; Seja, E.; Cherry, G.; Gutierrez, A.J.; Grogan, T.R.; Mateus, C.; Tomasic, G.; Glaspy, J.A.; Emerson, R.O.; Robins, H.; Pierce, R.H.; Elashoff, D.A.; Robert, C.; Ribas, A. PD-1 Blockade Induces Responses by Inhibiting Adaptive Immune Resistance. *Nature*. **2014**, 515 (7528), 568–571.
- Hanahan, D. Weinberg, R.A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*. **2011**, 144 (5), 646–674.
- Sharpe, A.H.; Freeman, G.J. The B7-CD28 Superfamily. *Nat. Rev. Immunol.* **2002**, 2 (2), 116–126.
- Keir, M.E.; Butte, M.J.; Freeman, G.J.; Sharpe, A.H. PD-1 and its Ligands in Tolerance and Immunity. *Annu. Rev. Immunol.* **2008**, 26, 677–704.
- Freeman, G.J.; Long, A.J.; Iwai, Y.; Bourque, K.; Chernova, T.; Nishimura, H.; Fitz, L.J.; Malenkov, N.; Okazaki, T.; Byrne, M.C.; Horton, H.F.; Fouser, L.; Carter, L.; Ling, V.; Bowman, M.R.; Carreno, B.M.; Collins, M.; Wood, C.R.; Honjo, T. Engagement of the PD-1 Immunoinhibitory Receptor by a Novel B7 Family Member Leads to Negative Regulation of Lymphocyte Activation. *J. Exp. Med.* **2000**, 192 (7), 1027–1034.
- Dong, H.; Strome, S.E.; Salomao, D.R.; Tamura, H.; Hirano, F.; Flies, D.B.; Roche, P.C.; Lu, J.; Zhu, G.; Tamada, K.; Lennon, V.A.; Celis, E.; Chen, L. Tumor-associated B7-H1 Promotes T-cell Apoptosis: A Potential Mechanism of Immune Evasion. *Nat. Med.* **2002**, 8 (8), 793–800.
- Brahmer, J.R.; Tykodi, S.S.; Chow, L.Q.; Hwu, W.J.; Topalian, S.L.; Hwu, P.; Drake, C.G.; Camacho, L.H.; Kauh, J.; Odunsi, K.; Pitot, H.C.; Hamid, O.; Bhatia, S.; Martins, R.; Eaton, K.; Chen, S.; Salay, T.M.; Alaparthi, S.; Grosso, J.F.; Korman, A.J.; Parker, S.M.; Agrawal, S.; Goldberg, S.M.; Pardoll, D.M.; Gupta, A.; Wigginton, J.M. Safety and Activity of Anti-PD-L1 Antibody in Patients with Advanced Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2012**, 366 (26), 2455–2465.

- Topalian, S.L.; Hodi, F.S.; Brahmer, J.R.; Gettinger, S.N.; Smith, D.C.; McDermott, D.F.; Powderly, J.D.; Carvajal, R.D.; Sosman, J.A.; Atkins, M.B.; Leming, P.D.; Spigel, D.R.; Antonia, S.J.; Horn, L.; Drake, C.G.; Pardoll, D.M.; Chen, L.; Sharfman, W.H.; Anders, R.A.; Taube, J.M.; McMiller, T.L.; Xu, H.; Korman, A.J.; Jure-Kunkel, M.; Agrawal, S.; McDonald, D.; Kollia, G.D.; Gupta, A.; Wigginton, J.M.; Sznol, M. Safety, Activity, and Immune Correlates of Anti-PD-1 Antibody in Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2012**, 366 (26), 2443-2454.
- Roach, C.; Zhang, N.; Corigliano, E.; Jansson, M.; Toland, G.; Ponto, G.; Dolled-Filhart, M.; Emancipator, K.; Stanforth, D.; Kulangara, K. Development of a Companion Diagnostic PD-L1 Immunohistochemistry Assay for Pembrolizumab Therapy in Non-small-cell Lung Cancer. *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.* **2016**, 24, 392-397.
- Burtneess, B.; Harrington, K.K.; Greil, R.; Soulières, D.; Tahara, M.; De Castro, G. Jr.; Psyrrri, A.; Baste Rotllan, N.; Neupane, P.C.; Bratland, Å.; Fuereder, T.; Hughes, B.G.M.; Mesia, R.; Ngamphaiboon, N.; Rordorf, T.; Wan Ishak, W.Z.; Roy, A.; Cheng, J.; Jin, F.; Rischin, D. KEYNOTE-048: Phase 3 Study of First-line Pembrolizumab (P) for Recurrent/Metastatic Head and Neck Squamous Cell Carcinoma (R/M HNSCC). ESMO 2018 Congress. 22 October 2018.
- Data on file. Agilent Technologies, Inc.

注意事項

This image shows a single sheet of white paper with horizontal ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

This image shows a single sheet of white paper with horizontal ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

This image shows a single sheet of white paper with horizontal ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

本書の一部または全部を書面による事前の許可なしに複製、改変、翻訳することは、著作権法で認められている場合を除き、法律で禁止されています。
掲載内容は 2019 年 5 月現在のもので、掲載内容は予告なく変わる場合がございます。

© Agilent Technologies, Inc. 2019
29339JA 2019NOV19

アジレント・テクノロジー株式会社
www.agilent.com

＜芝浦オフィス＞
〒108-0023
東京都港区芝浦四丁目16番36号
住友芝浦ビル

Tel : 03-5232-9970
Fax : 03-5232-9969

